I.

Beiträge zur Kenntnis von Baccharis genistelloides Pers.

unter besonderer Berücksichtigung der Inhaltsstoffe

II.

Über das Gypsophila-Saponin

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung

der Philosophischen Fakultät der Universität Basel

von

WILHELM MARTIUS

approb. Apotheker

aus Bad Aibling (Bayern)

STETTEN / BASEL 1933

BUCHDRUCKEREI KARL SCHAHL

I.

Beiträge zur Kenntnis von Baccharis genistelloides Pers.

unter besonderer Berücksichtigung der Inhaltsstoffe

II.

Über das Gypsophila-Saponin

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung

der Philosophischen Fakultät der Universität Basel

von

WILHELM MARTIUS

approb. Apotheker

aus Bad Aibling (Bayern)

STETTEN / BASEL 1933

BUCHDRUCKEREI KARL SCHAHL

Genehmigt von der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung der Philosophischen Fakultät auf Antrag der

Herren Professoren

Dr. H. ZÖRNIG und Dr. P. CASPARIS.

BASEL, den 16. Mai 1933.

Prof. Dr. M. REINHARD

Dekan.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet!

*

Die vorliegende Arbeit wurde in der pharmazeutischen Anstalt der Universität Basel unter Leitung der Herren

Professoren

Dr. H. ZÖRNIG und Dr. P. CASPARIS

vom Wintersemester 1930/31 bis zum Sommersemester 1932 ausgeführt. Ich erfülle eine angenehme Pflicht, wenn ich auch an dieser Stelle meinen hochverehrten Lehrern für die freundliche Unterstützung und wohlwollende Förderung meiner Arbeit meinen herzlichsten Dank ausspreche.

Inhaltsübersicht.

Seite

I. Beiträge zur Kenntnis von Baccharis genistelloides Pers.

Einleitung 1
Über die medizinische Verwendung von Baccharis genistelloides und ihre Anwendung in der Volksmedizin 2
Pharmakobotanisches über Baccharis genistelloides 3
Pharmakochemisches über Baccharis genistelloides 18
Bestimmung von Extrakt- und Aschegehalt 19
Vorproben 21
Allgemeine Vorproben auf Alkaloide, Glykoside etc 21
Perkolation I 22
Perkolation II 25
Hauptuntersuchung 29
Perkolation A 29
Perkolation B 43
Perkolation C 51
Das Saponin aus Baccharis genistelloides 55
Reinigung des Rohsaponins 55
Haemolyseversuche 60
Hydrolyse des Saponins 69
Untersuchung auf die bei der Hydrolyse abgespaltenen Zucker . 70
Zusammenstellung der Resultate 75

II. Über das Gypsophila-Saponin

I. Theoretischer Teil 79
II. Experimenteller Teil 84
1 Auswahl des Saponins 84
2. Hauptuntersuchung 87
Arbeitsschema 89
Elementar-Analyse des kristallisierten Saponins 99
Zusammenstellung der Elementar-Analysen früherer Autoren 100
Versuch zur Gewinnung der freien Saponinsäure 101
Versuch zur Darstellung der Calciumverbindung der freien Saponinsäure 102
Haemolyse 103

Literatur 104

Tafeln

Tafel I 5
Tafel II 9
Tafel III 11
Tafel IV 17
Tafel V 81
Tafel VI 82

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546708_0060

I.

Beiträge zur Kenntnis von Baccharis genistelloides Pers.

unter besonderer Berücksichtigung der Inhaltsstoffe.

Einleitung.

Die pharmazeutische Anstalt der Universität in Basel erhielt durch Herrn W. Nadolny, Basel, vor einigen Jahren etliche Kilogramm einer Droge aus Brasilien, die daselbst unter dem Namen „La Carqueja“ als geschätztes Fiebermittel bei den Eingeborenen in Gebrauch steht. Als Stammpflanze derselben konnte **Baccharis genistelloides Pers.** festgestellt werden. Da über die Inhaltsbestandteile dieser Droge nichts bekannt ist, schien es interessant, denselben näher zu treten. Ich habe es daher auf Anraten der HH. Professoren Dr. phil. H. Zörnig und Dr. phil. P. Casparis unternommen, diese pharmakochemisch zu untersuchen. Da in der deutschsprachigen Fachliteratur eine Beschreibung der Morphologie und Anatomie von Baccharis genistelloides bisher fehlte, soll außerdem eine entsprechende Darstellung erfolgen. Dem pharmakobotanischen Teil liegt zum Teil Literatur in englischer, spanischer und lateinischer Sprache zu Grunde, zum Teil wurden die dort gefundenen Angaben durch eigene Beobachtungen ergänzt und erweitert. Dies gilt im besonderen Maße für die Anatomie der Pflanze. Durch Aufnahme verschiedener Angaben über medizinische Verwendung der Droge soll die vorliegende Arbeit monographisch abgerundet werden.

Über die medizinische Verwendung von Baccharis genistelloides und ihre Anwendung in der Volksmedizin.

Der Name Baccharis soll nach Wittstein[1]) der Gattung Baccharis zugelegt worden sein, weil das aus den Stengeln einer Baccharis-Art — Baccharis cordifolia — gewonnene wohlriechende Öl bei den Bacchusfesten der alten Griechen Verwendung gefunden hat. Wittstein bemerkt dazu allerdings, daß die betreffende Pflanze möglicherweise Graphalium Sanguinum gewesen ist. In der Literatur konnte keine Angabe gefunden werden, wonach Baccharisarten in Griechenland vorkommen. Als ihre Heimat wird ausschließlich Amerika vermerkt, sodaß also diese Ableitung des Namens wohl recht unwahrscheinlich ist. Die Bezeichnung „genistelloides" verdankt die betreffende Baccharisart wohl dem ginsterähnlichen Aussehen der Pflanze.

Soviel aus der Literatur zu ersehen ist, werden verschiedene Baccharisarten auf dem südamerikanischen Kontinent medizinisch verwendet. Dabei scheint eine ganze Reihe von ihnen, darunter auch Baccharis genistelloides, unter dem Eingeborenennamen „La Carqueja" zu figurieren. Nach den einen Angaben[2]) findet „La Carqueja" Verwendung als Mittel gegen fieberhafte Erkrankungen, wie Wechselfieber, Malaria, gelbes Fieber; nach anderen Angaben[3]) soll sie bei Nieren- und Lebererkrankungen von besonderer Wirkung sein. Als erste Erwähnung der Pflanze als Arzneimittel zitieren Crocco, Mundt und Cinat[3]) eine Arbeit

[1]) Wittstein, G. C., Etymologisch-Botanisches Hand-Wörterbuch. Erlangen 1856.

[2]) Dragendorff, G., Die Heilpflanzen der verschiedenen Völker und Zeiten. Stuttgart 1898.

[3]) Crocco, Cleofé, Mundt, W. A., Cinat, E., Beiträge zum Studium einer Pflanze, welche in der argentinischen Volksmedizin verwandt wird: „La Carqueja", erschienen in den Anales de Farmacia y Biochimica. Buenos-Aires 1931, No. 3.

des Benediktiner-Paters José Ant. Dom. Persutty aus dem Jahre 1770, betitelt „Die Geschichte einer Reise zu den Inseln Malvinas etc.“, worin der Autor auf die Naturgeschichte zu sprechen kommt und u. a. auch die Pflanze „La Carqueja“ erwähnt. Martius[4]) schreibt über die Wirkung von „La Carqueja“, worunter er verschiedene Baccharisarten versteht, folgendes:

„Als Dekokt und Extrakt kann die Wirkung der Bitterstoffe des Krautes, sowie die Schleim- und Harzbestandteile gegen Wechselfieber und Magenschwäche gleich der von Cortex Cascarillae verglichen werden“ (Martius' Reise I. 283 n. 29).

„Die bitteren, harzig-aromatischen Kräuter lassen sich durch unseren heimischen Absinth ersetzen. Als Extrakt im Verein mit Cortex Aurantiorum in Pillenform dargereicht, lassen sie sich bei Verdauungsbeschwerden, Magenschwäche, allgemeinen Schwächezuständen, bei Blutleere nach starken Blutungen verwenden“ (Materia medica Brasil. Seite 44).

Rosenthal[5]) führt speziell Baccharis genistelloides Pers. an. Seinen Ausführungen ist zu entnehmen, daß die Pflanze in Chile und Peru nicht nur gegen Wechselfieber, sondern auch in der Tierheilkunde Verwendung findet.

Der Gewährsmann von Herrn Nadolny, Basel, welch letzterem wir die Droge verdanken (siehe Einleitung), schreibt über dieselbe: „ . . . . die Indianer verwenden sie mit großem Erfolg gegen Malaria, Wechselfieber, gelbes Fieber usw. Die Eingeborenen nennen den Strauch Carqueja. Zu kultivieren ist die Pflanze leicht. Es gibt hier übrigens Tabletten zu kaufen, die angeblich mit Hilfe dieser Pflanze hergestellt sind und eine außerordentliche Wirkung gegen die oben angeführten Fieber haben sollen. Die Wirkung soll der des Chinins zum Mindesten gleich kommen, wenn nicht sogar sie übertreffen . . . . “.

---

[4]) Martius, C. F. Ph. von, Systema materiae medicae Brasiliensis. Regensburg 1843.

[5]) Rosenthal, D. A., Synopsis Plantarum diaphoricarum. Systematische Übersicht der Heil-, Nutz- u. Giftpflanzen aller Länder. Erlangen 1862.

Pharmakobotanisches über Baccharis genistelloides.

Systematik.

Baccharis genistelloides var. trimera Peersoon. Tubuliflorae, Asteroideae, Baccharideae, gehört einer formenreichen Gattung an.

Synonyma:

Der Index Kewensi's nennt für Baccharis genistelloides folgende Synonyma:

B. Pers. Syn. 11 425 = Peruv.
B. Poepp ex DC Prod. v. 425 = sagittalis.
B. trimera, DC v. 425 = B. genistelloides.
Cacalia decurrens, Vell. Fl. Flum. 340 v. 111 t. 72
= B. genistelloides.
Molina trimera, Less. in Linneae, vi (1831) 141
= B. genistelloides.
Molina reticulata, Ruiz & Pav. 1. c. 212
= B. genistelloides.

Verbreitung und Vorkommen.

Nach Engler-Prantl[6]) zählt die Gattung Baccharis zwei- bis dreihundert Arten, deren ausschließliches Verbreitungsgebiet Amerika, vorwiegend dessen tropischer Teil, ist. Insbesondere ist diese Gattung in Brasilien stark vertreten, wo allein 130 Arten gezählt wurden. In Zentralamerika sind 45 Arten, in Westindien ca. 6 Arten gefunden worden; alle übrigen kommen im tropischen Südamerika vor.

[6]) Engler-Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien, IV. 5. Seite 170.

TAFEL I

Abb. 1.

Blütensproß von Baccharis genistelloides Pers.

Die Wiedergabe dieser Abbildung verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Usteri.

Baccharis genistelloides findet sich nach Crocco, Mundt und Cinat[3]) hauptsächlich auf den Grassteppen des ganzen südamerikanischen Kontinentes; nach Kupfer[7]) findet sie sich in den Gebirgen Perus und Neugranadas und reicht dort bis zu den Höhen von 1200 m. Nach Engler-Prantl[6]) steigt die typische Form in den Anden bis zu 5000 m Höhe hinauf.

Baccharis genistelloides zieht kalkarmen, trockenen Boden (terra vermehla) vor und findet sich dementsprechend hauptsächlich auf öden Camps (Pampas), weit seltener in Wäldern. Wenn die Pflanze gelegentlich an Bächen oder sonst am Rande von Gewässern auftritt, wird sie mastiger; nach einer privaten Mitteilung von Herrn Dr. phil. Usteri, Basel, ist möglicherweise die am Wasser wachsende, von Heering aufgestellte Art Baccharis Usterii nur eine solche am Wasser auftretende Form von Baccharis genistelloides, was jedoch von Heering bestritten wird.

Die botanische Beschreibung von Baccharis genistelloides ist bisher meist in ausländischen, uns ziemlich schwer zugänglichen Werken der Literatur erschienen. Eingehend haben sich mit dieser Pflanze befaßt: E. Kupfer, Anatomie und Physiologie von Baccharis genistelloides, erschienen in Bulletin Torray Botanical Club, Band XXX, Jahrgang 1903, sowie C. Crocco, W. A. Mundt und E. Cinat, Beiträge zum Studium einer Pflanze, welche in der argentinischen Volksmedizin verwendet wird: „La Carqueja" (Baccharis genistelloides Pers.), erschienen in den Anales de Farmacia y Biochimica vom 1. X. 1931 No. 3, Buenos-Aires. Erstere Arbeit ist in englischer Sprache, letztere in spanischer erschienen. Es finden sich noch ältere Angaben in der Literatur aus dem vorigen Jahrhundert, die dem damaligen Gelehrtenbrauche folgend, in lateinischer Sprache abgefaßt sind. Dies sind vor allem die Arbeiten von

Vellozo, Index methodicus Florae Fluminensis,

Vellozo, Quinographica Portugueza,

---

[3]) Crocco, C., Mundt, W. A., Cinat, E, Beiträge zum Studium einer Pflanze, welche in der argentinischen Volksmedizin verwandt wird: „La Carqueja". Anales de Farmacia y Biochimica. Buenos-Aires 1931. No. 3.

[6]) Engler-Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien. IV. 5. pag. 170.

[7]) Kupfer, E., Anatomie und Physiologie von Baccharis genistelloides. Bulletin Torray Botanical Club, Band XXX, 1903.

Guil. Pisonis et G. Marcgravii, Historia naturalis Brasiliae,

Carl Friederich Philipp von Martius, Flora von Brasilien,

Carl Friederich Philipp von Martius, Systema materiae medicae vegetabilis Brasiliensis,

G. Bentham et J. D. Hocker, Genera Plantarum, Vol. II, pars. I.

De Candolle, Prodromus V Seite 424, 425.

Im Zusammenhang mit der ganzen Gattung Baccharideae-Astereae erwähnen Engler-Prantl in ihrem Werk: Die natürlichen Pflanzenfamilien, auch Baccharis genistelloides.

Morphologie.

Baccharis genistelloides ist nach Kupfer[7]) ein vielfach verzweigter, glatter, perennierender Halbstrauch, der im ersten Jahre seiner vierjährigen Lebensdauer etwa einen Meter hoch wird, jedoch im Laufe der folgenden Jahre nicht wesentlich an Höhe zunimmt. Martius[8]) gibt als äußerstes „4 Fuß hoch sich erhebend" an (4 Fuß = 120 bis 130 cm). Die Zweige sind schon frühzeitig verholzt, sie tragen immer — mit Ausnahme der ganz untersten Stammesteile — drei flache Flügel, welche dieser sonst laubfreien Steppenpflanze ihr typisches Aussehen verleihen. Die von Kupfer[7]) beobachtete Blütezeit ist Dezember bis Februar, eine Wahrnehmung, die sich allerdings auf künstliche Anpflanzung im botanischen Garten in New-York bezieht und die wir leider nicht für die wildwachsende Pflanze nachzuprüfen vermochten.

Die Flügel sind für die Pflanze die charakteristischsten Merkmale. Sie treten an allen Zweigen- und Stammesteilen auf, mit Ausnahme der ganz alten, durch sekundäres Dickenwachstum verdickten Stämme nahe der Basis, wo sie meist abgefallen sind. Alle Zweige sind dreiflügelig und zwar stehen die Flügel seitenständig in aufgerichteter Form immer in drei gleichen Winkeln, also 120° auseinander. Die Größe und Breite der Flügel ist abhängig von den Ausmaßen der Zweige und Stengel. Während diejenigen der Mittelachse 10 bis 18 cm lang und bis zu 2 cm

[7]) Kupfer, E., Bulletin Torray Botanical Club, XXX, 1903.
[8]) Martius, C. F. P. v., Flora von Brasilien, Bd. VI, Teil III.

breit sein können, weisen die Flügel der Seitenzweige erster Ordnung nur Breiten von einigen Millimetern und Längen von 3 bis 8 cm auf, indessen diejenigen der kleineren Zweige noch geringere Ausmaße zeigen. Die Flügel sind flach und steif aufgerichtet; die gegen die Spitze zu verlaufenden sind äußerst dünn, die unteren etwas dicker; sie brechen nach dem Trocknen der Droge sehr leicht ab und fühlen sich in der getrockneten Pflanze ziemlich glatt und hart an. Mit der Lupe betrachtet, läßt sich eine feine, netzartige Nervatur und eine zarte Punktierung erkennen. Einige stärkere, beidseitig schwach hervortretende Nerven laufen zueinander parallel im spitzen Winkel zum Stamm nach oben gegen den Flügelrand zu. Die Farbe der Flügel in der vorliegenden Droge ist dunkelgraugrün.

Für die Form der Flügel ist besonders typisch, wie sie, am Stamm entlang laufend, von Zeit zu Zeit abgesetzt sind. Meist entspringen je zwei der wie erwähnt im Winkel von 120° zueinanderstehenden Flügel an der Basis eines schuppenförmigen Blättchens. Der eine von ihnen durchläuft ein Internodium und endigt an der Stelle des Zweiges, an welcher das dritte Flügelblatt zum Stamm zurückläuft und wo wiederum ein Schuppenblättchen sitzen kann. Das andere Flügelblatt erstreckt sich über zwei Internodien, um dann auf die gleiche Weise zu endigen. Auf diese Art überholen sich die Flügel wechselseitig. Dort wo Seitenzweige entspringen, kann man jedoch auch Flügelblätter beobachten, welche gleichzeitig beginnen und gleichzeitig endigen. Im allgemeinen jedoch wechseln jeweils ein langer und ein kurzer Flügel in der gleichen vertikalen Richtung ab. Die Flügel sind ganzrandig, der Rand leistenförmig, ober- und unterseits verdickt, die Spreite schwach gewellt.

Die Gattung Baccharis weist Arten mit völlig voneinander verschiedenen Blattformen auf. Eine ganz besondere Stellung kommt jedoch Baccharis genistelloides dadurch zu, daß sie entweder keine oder wenn, dann stark verkümmerte reduzierte Blätter aufweist. Die Form dieser Blättchen ist einseitig-lineallanzettlich. Infolge ihrer Unansehnlichkeit fallen sie fast gar nicht ins Auge und können darum leicht übersehen werden. Die Flügel dagegen müssen, obwohl sie Ähnlichkeit mit einem Blatt haben, als Ausstülpungen des Stammes angesehen werden.

Den oberen Sprossen fehlen fast immer die Blättchen, dagegen findet man sie für gewöhnlich in den unteren Partien

TAFEL II

Abb. 2.

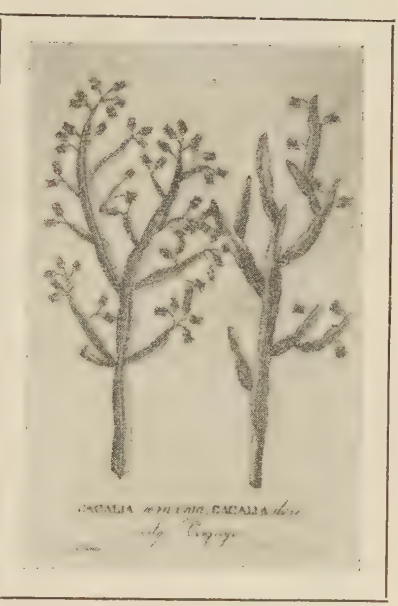


Abb. 3.

Die Abbildungen stammen aus der von dem Jesuitenpater José Mariano Vellozo verfaßten Quinographica Portogueza aus dem Jahre 1799.

der Pflanze dicht unterhalb der Basis eines entspringenden Seitenastes, meist einzeln, zuweilen aber auch zu zweien oder gar zu mehreren auftretend. Ihre Größe ist sehr variabel; sie bewegt sich zwischen 3 und 20 Millimeter Länge und 2 und 12 mm Breite. Diese Blättchen sind sitzend, spatelförmig, schwach zugespitzt. Die zwei etwas fleischigen Blatthälften liegen nicht in einer Ebene, sondern in der Weise am Hanptnerv in einem Winkel zueinander, daß die beiden, dem Stamm zugekehrten Blattoberflächen einander genähert sind. Sie sind also nach der Oberseite zu schwach eingeklappt.

Die zweihäusigen, eingeschlechtigen Blütenköpfchen sitzen an den verlängerten Ähren in unterschiedlichen Abständen und zwar in den obersten Lagen einzeln, in den untersten Lagen der Ähren meist zu zweit dicht aneinander gedrängt. Die gleichfalls dreiflügelige Ähre, an welcher die Köpfchen sitzen, mißt bis zu 15 cm. Die weiblichen Blütenköpfchen sind becherförmig, etwa 4 mm breit, 8 bis 10 mm lang. Der Hüllkelch wird gebildet durch in 2 bis 4 Zeilen angeordnete, dachziegelförmig übereinanderliegende, harte, nach oben spitz zulaufende, behaarte, strohgelbe Hüllblättchen mit blassen Rändern. Das feingrubige, kahle Receptaculum mit einem Durchmesser von 2 mm ist schwach gewölbt. In einem Köpfchen sind 50 und mehr Einzelblüten vorhanden. Die weibliche Blütenkrone ist farblos und bildet eine lange Röhre mit 5 Kronblattzipfeln. Sie umschließt einen Griffel mit tief gespaltener zweiteiliger Narbe. Der Fruchtknoten ist walzenförmig und besitzt 10 Rippen. Er wird gekrönt durch einen rötlichen Pappus, der aus ca. 20 zierlichen, leicht beweglichen Wimpern sich zusammensetzt. Die männlichen Blütenköpfchen sind etwas kleiner, als die weiblichen; die Blumenkrone endet in 5 zurückgeschlagene Zipfel.

Anatomie des Blattes.

Der Querschnitt durch das Blatt zeigt folgendes Bild: Das deutlich ausgeprägte Mesophyllgewebe weist eine unifaciale Blattstruktur auf, welche durch die beiderseitige, in 2 bis 3 Lagen angeordnete Palisadenschicht zum Ausdruck kommt. Kupfer[7]) schildert den Bau des Blattes als dorsiventral und spricht von

[7]) Kupfer, E, Anatomie und Physiologie von Baccharis genistelloides. Bulletin Torray Botanical Club. XXX. 1903.

TAFEL III

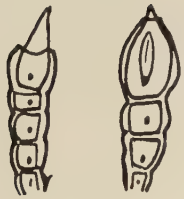


Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

Fig. 5 a

Fig. 6

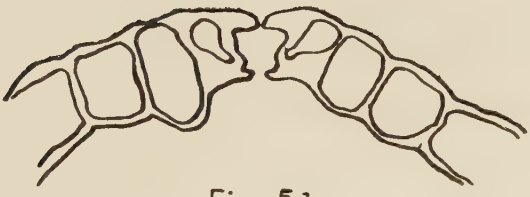


Fig. 5 b

Fig. 7

Fig. 1: bedecktes, überzogenes Geißelhaar. Fig. 2: Drüsenhaar. Fig. 3: Geißelhaar. Fig. 4: obliteriertes Geißelhaar. Fig. 5 a: Spaltöffnung (geöffnet). Fig. 5 b: Spaltöffnung (geschlossen). Fig. 6: Sproß von Baccharis genistelloides mit Blättchen. Fig. 7: Blatt.

Fig. 1, 2, 3, 6 und 7 sind der Abhandlung E. Kupfer entnommen.

einer nur zweireihigen Palisadenschicht; auch auf der von Kupfer wiedergegebenen Abbildung ist beim Blatt die Palisadenschicht nur einseitig zu erkennen. Wir konnten im Gegensatz hiezu an zahlreichen Schnitten feststellen, daß Palisaden beiderseits in 2 bis 3 Reihen vorkommen, daß also das Blatt wie der Flügel isolateralen Bau zeigt.

Zwischen beiden Palisadenschichten liegt ein aus ungleichmäßigen Zellen bestehendes, lockeres, mehrreihiges Schwammparenchym mit verhältnismäßig kleinen Interzellularräumen, in welchem sich die Gefäße befinden. Der Hauptnerv ist von collenchymatischem Gewebe begleitet, wodurch die Mittelrippe um ein Beträchtliches verdickt wird. Die 3 bis 5 Seitennerven der Blattspreite weisen kein Collenchymgewebe auf. Die Gefäßbündel sind von Sklerenchymfasergruppen begleitet, die indessen hier viel weniger mächtig sind als in den Flügeln. Auch im Blatt sind die bei den Flügeln erwähnten Sekretgänge anzutreffen. Die Epidermisschicht besteht aus langgestreckten, starkwandigen, zur Palisadenschicht querlaufenden Zellen. Die Cuticula ist von einer körnigen Wachsschicht überlagert. Spaltöffnungen sind auf beiden Seiten des Blattes vorhanden; in Bau und Größe entsprechen sie denen des Flügels. Ihre Zahl ist auf der Unterseite pro Quadratmillimeter 105, auf der Oberseite 50. Die bei den Flügeln besprochenen Trichomreste sind bei den Blättern weit seltener.

Anatomie des Hüllblattes.

Nach Crocco, Mundt und Cinat[3]) bestehen die Hüllblätter am Außenrand aus Zellen mit papillösem Rand; im Zentralteil besitzen sie beinahe rechteckige Zellen, zwischen denen sich zahlreiche Haare beobachten lassen, die aus 5 Zellen sich zusammensetzen; 4 kleine, ungefähr würfelförmige Basalzellen mit konisch verlängerter Endzelle.

Anatomie des Flügels.

Der Querschnitt durch den Flügel ergibt folgendes anatomisches Bild:

Cuticula: Die Cuticula ist gefaltet und nicht immer deutlich ausgeprägt. Sie ist mit einer dicken Wachsschutzschicht bedeckt. Diese Wachsschicht bildet ein ganzes System von

[3]) Crocco, C., Mundt, W. A., Cinat, E., Beiträge zum Studium einer Pflanze, welche in der argentinischen Volksmedizin verwandt wird: „La Carqueja". Anales de Farmacia y Biochimica. Buenos-Aires 1931. No. 3.

ungleichförmigen Platten, welche bei den jüngeren Teilen der Pflanze in deutlich dickerer Schicht übereinander gelagert sind. In den älteren, größeren Flügeln ist das Wachs in Form gleichsam oben hingestreuter Schuppen und Schüppchen dünner aufgetragen. Das Cutin ist gleichmäßig über die Flügel ausgebreitet, und auch hier finden wir es bei den jüngeren Teilen stärker verdickt wie bei den alten. Das Wachs ist in Äther und heißem Alkohol löslich.

Epidermis: Die Epidermis wird aus rechteckigen, in der Richtung der Blattoberfläche gestreckten Zellen gebildet, deren Außen- und Innenwände deutlich ausgebuchtet sind. Am wulstig verdickten Rand der Flügel ist sie durch ein mehrreihiges, collenchymatisches Hypodermgewebe unterlagert. Ebenso findet sich über den stärksten Nerven ein einreihiges Hypodermgewebe.

Spaltöffnungen: Der Bau des Flügels, der ja an der Pflanze dem Stamm entlang läuft und an welchem dementsprechend keine Ober- und Unterseite unterschieden werden kann, ist isolateral. Demzufolge sind die Spaltöffnungen auf beiden Seiten des Flügels gleichmäßig verteilt. Sie sind in großer Zahl anzutreffen und zwar finden sich im Durchschnitt 75 pro qmm. Durchwegs sind diese an den jüngeren Flügeln nur schwach hervortretend. Die zwischen den Schließzellen liegende Öffnung zeigt eine besonders typische Trichterform. Die Schließzellen selbst zeichnen sich vor allem durch zwei längliche, an den Enden schmäler werdende, äußere Vorsprünge aus, die den Eingang in den Trichter zu verschließen in der Lage sind. Die Ausmündung des Trichters in die riesige Atemhöhle vermag ebenfalls durch zwei vorgewölbte Leisten verschlossen bezw. geöffnet zu werden. Die sonst gleichmäßig über die ganze Pflanze ausgebreitete Wachsschicht liegt an den Spaltöffnungsapparaten merklich dünner.

Mesophyll: Das Palisadengewebe besteht auf beiden Seiten der Flügel aus in 2 bis 3 Reihen angeordneten, isodiametrischen, senkrecht zur Epidermis gestreckten Zellen. Diese sind ziemlich gleichförmig, nur 2- bis 3mal länger als breit und enthalten reichlich Chlorophyll. Das zwischen den beiden Schichten liegende Schwammparenchym hebt sich wenig deutlich vom Palisadengewebe ab und besteht aus rundlich polygonalen, lockeren Zellen. Die Interzellularräume sind wenig häufig und verhältnismäßig klein. Kristallbildungen irgendwelcher Art fehlen den Flügeln. Dort wo Gefäßbündel verlaufen, wird das Schwamm-

parenchym unterbrochen, indem beiderseits das Palisadengewebe an diese stößt.

Gefäßbündel: Die Flügelblätter verdanken ihre Steifheit und Festigkeit dem wohlentwickelten mechanischen Gewebe, das gemeinsam mit den Gefäßbündeln austritt. Als besonders charakteristisch ist das am äußersten Rand des Flügels auftretende, mächtige Sklerenchymfaserbündel zu bezeichnen, welches dem Blattrand auf dem Querschnitt einen köpfchenförmig angeschwollenen Anblick verleiht. Das Sklerenchymfaserbündel schließt ein zartes Gefäßbündel gegen die collenchymatisch verdickte Hypodermis und die Epidermis ab; die einzelnen Fasern sind stark verdickt und verholzt; Durchmesser und Lumen sind ungefähr gleich. Dieses kräftige Sklerenchymfaserbündel bedingt, daß man den Rand des Flügels als steifen Faden vom übrigen Flügel ablösen kann. In regelmäßigen Abständen trifft man auf dem Querschnitt weitere Gefäßbündel an, die sämtlich nach außen einseitig durch eine Sklerenchymfaserscheide geschützt sind. Bei einzelnen ist dieses Faserbündel sehr stark. Es sind dies die oben genannten, von der Blattfläche sich abhebenden Hauptgefäßbündel. Die Gefäßbündel selbst bestehen aus wenigen, zarten Gefäßen und einem dünnen Siebteil, der direkt unter der Sklerenchymscheide liegt. Die Gefäßbündel sind, soweit es sich nicht um sehr junge handelt, regelmäßig von Sekretgängen begleitet, die an der Außenseite des Sklerenchymfaserbündels sich befinden. Ebensolche Sekretgänge liegen an der äußeren Seite des mächtigen Randfaserbündels unter dem Hypoderm.

Trichome: Das für die Familie der Compositen typische Merkmal des Vorkommens von 2 Arten von Haaren finden wir auch bei Baccharis genistelloides, nämlich: 1. Deckhaare und 2. Drüsenhaare.

Deckhaare: Die Deckhaare sind mehrzellige, einreihige Gliederhaare. Sie bestehen aus 3 bis 6 isodiametrischen Gliederzellen und einer spitzen, im unteren Teil etwas aufgetriebenen Endzelle, die erheblich größer als die einzelnen Gliederzellen ist, deren Länge aber nie diejenige der vereinigten Gliederzellen übertrifft. Die Größe der Gliederzellen nimmt nach der Basis zu ab, sodaß das ganze Haar gegen die Spitze hin wie angeschwollen aussieht; dabei kann die oberste Basalzelle viermal so groß als die unterste sein. Die Oberfläche der Haare ist glatt. Die Zellwände der Gliederzellen sind ziemlich stark verdickt, diejenigen

der Endzelle deutlich weniger. Die Gliederhaare enthalten zum Unterschied von den Drüsenhaaren niemals Chlorophyll. Auf älteren Flügeln kollabieren die Haare häufig in verschiedener Weise so, daß entweder nur die Endzelle oder auch eine oder mehrere Gliederzellen zusammenfallen. Das erste ist der häufigere Fall. Dadurch erhalten die Haare ein von ihrer ursprünglichen Form abweichendes, stark verkrümmtes Aussehen. Die Haare stehen auf den jungen Flügeln stets zu zweit nebeneinander und finden sich dort in verhältnismäßig großer Zahl. Auf den an den unteren Stammteilen befindlichen älteren Flügelblättern sind sie viel seltener und häufig nur in Einzahl anzutreffen, indem das eine der beiden meist abgebrochen ist. Die Haare der kleinen und kleinsten Flügel sind meist reichlich mit Wachs überzogen.

Drüsenhaare: Die Drüsenhaare treten an den Flügeln weniger häufig auf als die Deckhaare. Fast regelmäßig sind sie über dem Collenchymgewebe des Flügelrandes anzutreffen. Sie besitzen die typische Form der Compositendrüsen und bestehen aus zwei Reihen von je 3 bis 5 Zellen, die sich von unten nach oben stark vergrößern. Ein besonderes Kennzeichen ist ihr Gehalt an Chlorophyll in den Endzellen. Auch die Drüsenhaare sind von einer Cuticularschicht bedeckt und in den jüngsten Teilen dicht mit Wachs überzogen.

Anatomie des Stammes.

Der Durchmesser des Stammes variiert je nach der Entwicklung der Pflanze zwischen 1 und 8 mm. Der Querschnitt durch einen jungen Stiel zeigt typisch dreikantige Form. Innerhalb jeder dieser drei Kanten liegt ein Hauptgefäßbündel, das stets von zahlreichen Sklerenchymfasern begleitet ist. Zwischen diesen großen Gefäßen liegen in ungleichmäßigen Abständen verteilt 4 bis 6 kleinere Bündel. Nach außen sind diese begrenzt durch eine halbmondförmige, aus stark verdickten Fasern bestehende Sklerenchymscheide. Zwischen den Gefäßbündeln tritt schon frühzeitig kräftige Holzparenchymbildung auf, sodaß der Zentralzylinder schon in verhältnismäßig jungem Stadium durch einen mehr oder weniger geschlossenen Holzring begrenzt ist. Das Mark besteht aus nach dem Zentrum hin größer werdenden, rundlichen, schwach getüpfelten, dünnwandigen Zellen. Die primäre Rinde ist nach innen sehr deutlich begrenzt durch eine

aus isodiametrischen Zellen gebildete Endodermis, die dort, wo sie sich über die primären Sklerenchymfaserbündel zieht, sternförmig nach außen gebuchtet wird. Das Parenchymgewebe der primären Rinde zeigt keine Besonderheiten. Es ist kristallfrei und enthält in jüngeren Stadien Chlorophyll. Die äußere Begrenzung der primären Rinde bildet eine von einer körnigen Cuticula überzogene Epidermis, die stellenweise tief eingebuchtet ist. In diese Buchten eingesenkt sitzen die oben geschilderten Haare. Die Spaltöffnungen sind halbkreisförmig über die Epidermis emporgewölbt, wodurch die Atemhöhle wesentlich vergrößert wird.

Ein Querschnitt durch ein älteres Stammstück (siehe Tafel IV Seite 17) zeigt im Zentralzylinder einen durch Dickenwachstum reichlich verbreiterten Ring von Holzparenchym, in welchem zwischen den primären Gefäßbündeln zahlreiche neue Gefäße anzutreffen sind. Außer dem nicht sehr verdickten Holzparenchym sind zahlreiche Sklerenchymfasern anzutreffen, die zum Teil in Gruppen zusammenliegen und denjenigen der primären Faserbündel vollkommen gleich sind. Cambium und sekundäre Rinde sind meist sehr stark zusammengefallen; in der sekundären Rinde finden sich jeweils vor den durch Sekundärwachstum entstandenen Gefäßen neue Sklerenchymfaserbündel oder einzelne Sklerenchymfasern. Die primären Faserbündel sind infolge des Dickenwachstums stark nach außen gedrückt worden. Die Endodermis ist auch in Querschnitten durch ältere Stammteile noch deutlich sichtbar. Die Gefäße sind teilweise Ringgefäße und teilweise Netzgefäße. Das Holzparenchym besteht aus langgestreckten, einfach getüpfelten, rechteckigen, nicht sehr stark verdickten Zellen. Die Sklerenchymfasern des Holzteiles sind sehr langgestreckt, spitz zulaufend und etwa bis auf die Hälfte des Lumens verdickt.

TAFEL IV

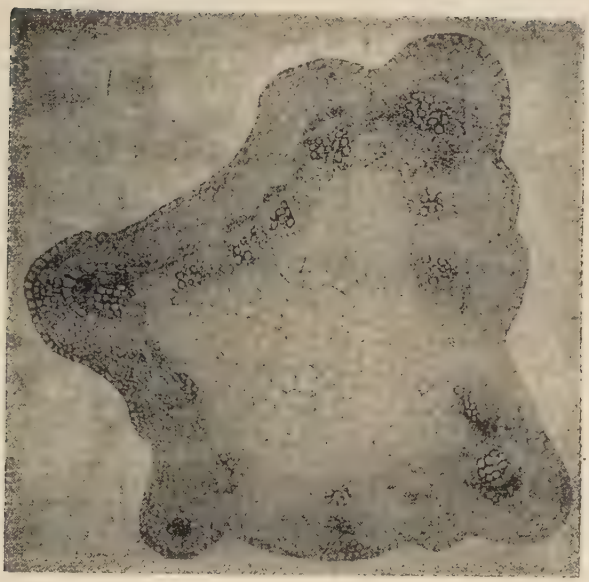


Abb. 8.

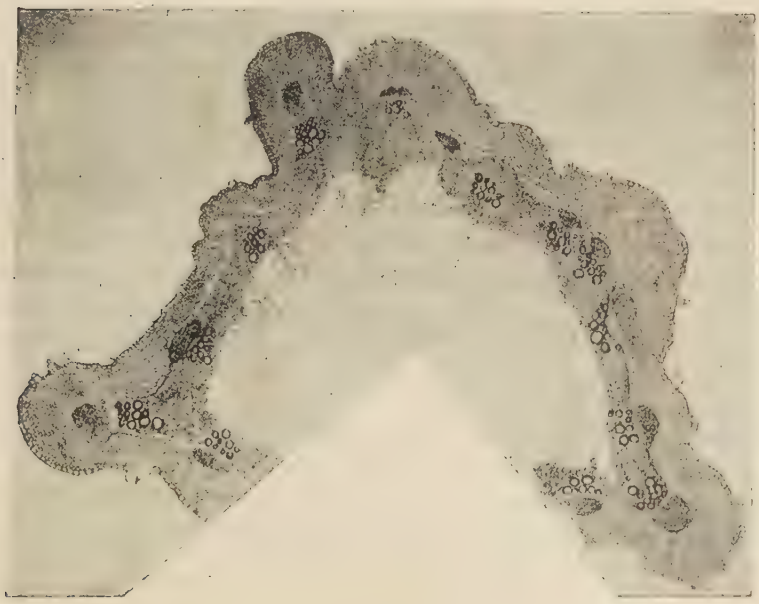


Abb. 9.

Querschnitt-Bilder des Stengels.

Pharmakochemisches über Baccharis genistelloides.

In der Literatur ist bis heutigen Tages keine Arbeit erschienen, die sich speziell mit den chemischen Inhaltsbestandteilen von Baccharis genistelloides befaßt.

Einzig Martius erwähnt in seiner Materia medica Brasiliensis (siehe Seite 3), daß die Wirkung der Droge auf ihren Inhalt an Bitterstoff, Schleim und Harzbestandteilen beruhe.

Über chemische Untersuchungen naher Verwandter der vorliegenden Baccharis-Art fanden wir in der Literatur drei Angaben.

Die eine Arbeit stammt von J. Brandl und G. Schärtel*) „Über die wirksame Substanz von Baccharis cordifolia (Mio-Mio)". Die Autoren wurden dazu angeregt durch eine im Jahre 1879 vorausgegangene Arbeit von P. N. Arata, der ein kristallinisches Alkaloid — Baccharin, wie er es nannte — gefunden haben wollte. Den Verfassern gelang es, aus der in Argentinien häufig vorkommenden Pflanze, die dort als Vesicans häufig verwendet wird, ein gelbgrünes Öl (Baccharisöl) mit giftigen Eigenschaften zu isolieren, weiterhin einen ungiftigen, weißen, kristallinischen Körper, dem die Formel $C_{20}H_{41}OH$ zuerkannt wurde, sowie einen ungiftigen harzigen Körper.

Außerdem befaßt sich eine Arbeit mit Baccharis trinervis. Jos. S. Hepburn und Rob. Stroh**) fanden bei der Untersuchung von Baccharis trinervis und zwei unter dem Namen „Alkotan" in Costa-Rica bekannten Pflanzenarten ein Saponin, sowie ein Oleoresin, dagegen keine Alkaloide.

*) Arch. d. Pharm. 253, 195, 1915.

**) Americ. Journ. Pharm. 96/804—9/1924, ref. Chem. Zentralbl. I/718/1925.

Schließlich sei noch der Auffindung eines Saponins gedacht, welche J. A. Dominguez, J. F. Molfinou, E. L. Gallelli*) aus den Stengeln, Blättern und Blüten von Baccharis serrulata Pers. gelungen ist.

Somit lag also immerhin die Vermutung nahe, daß Baccharis genistelloides vielleicht ein Alkaloid oder ein Saponin enthalten könnte. Die Untersuchung erschien umso angezeigter, als wie eingangs erwähnt (siehe Seite 3), der Gewährsmann von Herrn Nadolny mitteilt, daß die Droge in ihrer Wirkung als Fiebermittel der Chinarinde gleichkäme.

Bestimmung von Extrakt- und Aschegehalt.

Bestimmung des wässerigen Extraktes nach Ph. Helv. IV.

10 g feingepulverte Droge wurden mit 100 g siedendem Wasser übergossen, kräftig geschüttelt und die Mischung 24 Stunden lang unter öfterem Umschütteln mazeriert. Hierauf filtrierte man ab und dampfte 50 ccm des Filtrates auf dem Wasserbad zur Trockene ein. Die Schale wurde mit dem Rückstand bei 100 ° getrocknet und gewogen. Das Gewicht des Rückstandes mit 20 multipliziert, ergab den Prozentgehalt der Droge an wässerigem Trockenextrakt.

Trockenrückstand: 0,657 g = 13,54 %.

Bestimmung des weingeistigen Extraktes.

10 g feingepulverte Droge wurden mit 100 g = 122 ccm 90 %igem Alkohol eine halbe Stunde lang gekocht. Nach dem Filtrieren wurden 61 ccm der dunkelgrüngefärbten Lösung auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft, im Trockenschrank bei 100 ° getrocknet und der verbleibende Rückstand gewogen. Das Gewicht des Rückstandes mit 20 multipliziert, ergab den Prozentgehalt der Droge an weingeistigem Trockenextrakt.

Trockenrückstand: 0,9014 g = 18,028 %.

*) Trabajos del Instituto de Botanica y Farmacologia de Buenos-Aires No. 40/1919.

Aschebestimmung der Droge.

Zur Verarbeitung gelangten etwa 5 g Droge. In einem geräumigen Porzellanschälchen wurde das genau abgewogene Drogenpulver über kleiner Flamme vorsichtig verkohlt und unter allmählicher Verstärkung der Hitze das Pulver vollkommen verascht. Um eine absolut kohlenfreie Asche zu erhalten, wurde nach geraumer Zeit die Flamme weggenommen. Den Porzellantiegel ließ man erkalten und befeuchtete die Asche nach dem Gaudard'schen Verfahren *) mit einer 5%igen Lösung von Ammoniumnitrat in 2%iger Wasserstoffsuperoxydlösung. Die feuchte Asche wurde hierauf im Trockenschrank bei 105° getrocknet und sodann bis zur Gewichtskonstanz geglüht.

Resultat: 4,9725 Drogenpulver ergaben 0,2840 g Asche, entsprechend 5,71%.

Aschebestimmung des wässerigen Totalextraktes.

0,5027 g des nach der Extraktionsbestimmungsmethode der Ph. Helv. IV. gewonnenen wässerigen Totelextraktes wurden nach Trocknung im Exsiccator in einem Porzellanschälchen vollkommen verascht. Sie ergaben 0,0572 g Asche = 8,08%; bezw. auf Droge bezogen: = 11,38%.

Kieselsäurebestimmung.

Zur Ausführung dieser Bestimmung wählten wir die Bestimmung von Gaudard *).

Die bei der Aschebestimmung (siehe oben) erhaltene kohlefreie Asche wurde dreimal mit 25%iger Salzsäure abgeraucht, indem man sie mit der Säure befeuchtete und über kleiner Flamme zur Trockene verdampfte. Hierauf wurde die so vorbehandelte Asche mit verdünnter Salzsäure aufgenommen, auf ein quantitatives Filterchen gegossen, mit Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaktion des Ablaufes nachgewaschen. Das noch feuchte Filter wurde samt Inhalt im Porzellantiegel getrocknet, verbrannt und bis zur Gewichtskonstanz geglüht.

Resultat: 0,2840 g Asche ergaben einen in Salzsäure unlöslichen Rückstand von 0,1242 g, oder als Kieselsäure berechnet und auf Droge bezogen: = 2,49%. Das Verhältnis von Kieselsäure zu Gesamtasche beträgt: 44:100.

*) Gaudard, F., Über den Kieselsäuregehalt einiger Arzneipflanzen, in: Pharm. Acta Helvetiae, No. 10/1929.

Vorproben.

Allgemeine Vorproben auf Alkaloide, Glykoside etc.

A. Versuche mit einem weinsauren, alkoholischen Auszug.

50 g geschnittene Droge wurden mit 250 ccm weinsaurem Alkohol eine halbe Stunde lang am Rückflußkühler erhitzt und filtriert. Das klare Filtrat wurde auf dem Wasserbad eingedampft und der Rückstand unter leichtem Erwärmen mit Wasser aufgenommen. Diese wässerige Lösung filtrierte man vom unlöslichen Rückstand (a) kalt ab. Die anfangs klare Lösung trübte sich nach drei Stunden leicht. Mit dieser Lösung (b) ausgeführte Reaktionen auf Alkaloide mit Mayers Reagens, Jodkalium-Quecksilberjodid, Silicowolframsäure, waren ergebnislos. Aus der wässerigen Lösung (B), welche durch nochmaliges Lösen des unlöslichen Rückstandes (a) in Alkohol, Eindampfen, Aufnehmen in Wasser, ergänzt wurde, stellten wir uns eine saure und eine alkalische Ätherausschüttelung, sowie eine ammoniakalische Chloroformausschüttelung her, welche gleichfalls keine Reaktionen mit den angegebenen Alkaloidreagenzien zeigten. Zur Prüfung auf wasserunlösliche Glykoside wurden mit dem endgültig verbleibenden Rückstand (a) noch allgemeine Kohlehydratreaktionen ausgeführt. Zu diesem Zweck lösten wir ihn in 20%iger, alkoholischer α-Naphtollösung und unterschichteten mit konz. Schwefelsäure. Es trat nur eine sehr undeutliche Reaktion auf.

B. Versuche mit einem wässerigen Auszug.

25 g Droge wurden mit 250 ccm Wasser eine halbe Stunde lang auf dem Wasserbad erwärmt und nach dem Erkalten ab-

filtriert. Das klare Filtrat reagierte sauer und gab mit Eisenchlorid eine grüne Fällung (Gerbstoffe). Ebenso ergab Bleiacetat eine Fällung, jedoch trübte sich das klare Filtrat mit Bleiessig nur schwach. Alkalische Kupferlösung erzeugte nach 1 Minute langem Kochen eine schwache Reduktion. Mit Salzsäure angesäuert, gekocht, wieder mit Kalilauge alkalisch gemacht und mit alkalischer Kupferlösung 1 Minute gekocht, erfolgte eine stärkere Reduktion (Glykoside und Polysaccharide). Eine weitere Prüfung des salzsauren Auszuges auf Alkaloide war gleichfalls ergebnislos. Der wässerige Drogenauszug mit einer Spur Soda geschüttelt, hinterließ einen starken Schaum, der beim Kochen nicht verschwand. Nach dem Kochen war auch keine Ausflockung erfolgt (Saponin??).

Weiterhin wurden je 5 g der Droge in drei kleine Erlenmeyerkolben gegeben. Glas 1 und 2 wurden mit Wasser übergossen, das etwas Chloroform enthielt. Glas 2 wurde außerdem mit etwas Emulsion versetzt. In Glas 3 gab man schwefelsaures Wasser. Alle drei Gläser wurden mit Korken verschlossen, an welchen ein Pikratpapier befestigt war, ohne daß dieses in die Flüssigkeit tauchte. In keiner der drei Proben trat Braunfärbung des Pikratpapiers auf; Blausäure bezw. Nitrilglykoside können also nicht vorhanden sein.

C. Vorversuche zur Auswahl geeigneter Extraktionsmittel.

Da die bisherigen Vorproben keinen genügenden Anhaltspunkt für das Vorhandensein eines bestimmten Körpers ergeben hatten, suchten wir durch Vorversuche die Auswahl geeigneter Extraktionsmittel für den Gang zu ermitteln.

Perkolation I.

500 g Droge wurden in einem Perkolator mit Petroläther übergossen und einen Tag stehen gelassen. Hierauf wurde mit 7 bis 8 Kilo Petroläther perkoliert. Der Hahn wurde soweit geöffnet, daß in der Minute 50 bis 60 Tropfen abliefen. Der anfangs grün gefärbte Ablauf wurde, nachdem eine Färbung nicht mehr festgestellt werden konnte und eine Probe des Ablaufes nach dem Verdunsten auf dem Uhrgläschen keinen Rückstand mehr hinterließ, eingeengt.

Aus dieser mit Petroläther vorextrahierten Droge wurden 6 kleine Perkolatoren mit je 50 g Droge gefüllt und nebeneinander mit folgenden 6 Lösungsmitteln ausgezogen: 1. Aceton, 2. Äther, 3. Essigäther, 4. Benzol, 5. Chloroform, 6. Methylalkohol.

Bis zur völligen Erschöpfung wurden durchschnittlich von jedem Lösungsmittel 750 ccm verbraucht.

1. Acetonauszug.

Die Farbe der Acetonperkolatur war dunkelgrün. Nach Wegnahme des Lösungsmittels durch Vakuumdestillation verblieb ein dunkelgrün-bräunlicher, glasig glänzender Rückstand. Damit angestellte Lösungsversuche ergaben:

Lösungsmittel:	Einwirkung:
Alkohol	völlig löslich, Trübung nach dem Erkalten
Methanol	völlig löslich, Trübung nach dem Erkalten
Äther	teilweise löslich
Essigäther	teilweise löslich
Chloroform	teilweise löslich

2. Ätherauszug.

Die Farbe der Ätherperkolatur war gelbgrün. Der Rückstand war nach dem Verdunsten des Lösungsmittels eine grüne, zähe, klebrige Masse. Die damit angestellten Lösungsversuche ergaben:

Lösungsmittel:	Einwirkung:
Alkohol	teilweise löslich, bis auf weiße Schlieren
Methanol	teilweise löslich, bis auf weiße Schlieren
Essigäther	völlig löslich
Benzol	wenig löslich, reichlich weißer Rückstand
Aceton	fast vollkommen löslich
Chloroform	unvollkommen löslich, Abscheidung gelblicher Massen

3. Essigätherauszug.

Die Farbe der Essigätherperkolatur war dunkelgrün und stark fluorescierend. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels verblieb eine dunkelgrüne, zähflüssige Masse. Die damit angestellten Lösungsversuche ergaben:

Lösungsmittel:	Einwirkung:
Äther	teilweise löslich, großflockige Abscheidung
Chloroform	teilweise löslich, flockige Abscheidung
Methanol	völlig löslich, nach dem Erkalten Abscheidung
Aceton	völlig löslich
Alkohol	unvollständig löslich.

Im Rückstand des Essigätherauszuges fand sich eine kristallinische Abscheidung in kleinen Mengen. Die Kristalle waren stark lichtbrechend, von der Form eines Doppelrhomboeders, unlöslich in Alkohol, Chloroform, Essigäther, Methanol, Benzol, Äther und Eisessig. Beim Glühen im Porzellanschälchen wurden sie zuerst gelb, dann rot, ohne sich beim stärkeren Glühen weiter zu verändern. Infolge der kleinen Menge konnten sie nicht untersucht werden.

4. Benzollösung.

Die Farbe der Benzolperkolatur war gelb. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels verblieb nur ein geringer Rückstand, sodaß er ununtersucht blieb.

5. Chloroformauszug.

Die Farbe der Chloroformperkolatur war dunkelgrün und infolge einer Trübung undurchsichtig. Man engte noch stärker ein und filtrierte hierauf. Das nunmehr klare Filtrat wurde vollständig vom Lösungsmittel befreit. Mit beiden Rückständen des Chloroformauszuges wurden Lösungsversuche angestellt:

a) Filtrationsrückstand:

Lösungsmittel:	Einwirkung:
Alkohol	fast vollständig löslich
Essigäther	fast vollständig löslich
Aceton	fast vollständig löslich
Methanol	teilweise löslich mit gelbem Rückstand
Äther	teilweise löslich mit gelbem Rückstand

b) Das eingedickte Filtrat war dunkelgrün und von weicher, klebriger Konsistenz.

Lösungsmittel:	Einwirkung:
Alkohol	teilweise löslich, weißer Rückstand
Methanol	teilweise löslich, weißer Rückstand
Äther	unvollständig löslich
Essigäther	vollständig löslich
Benzol	kaum löslich
Aceton	unvollkommen löslich

6. Methylalkoholauszug.

Die Farbe der Methylalkoholperkolatur war dunkelgrün. Nach Wegnahme eines großen Teiles des Lösungsmittels erfolgte eine starke Trübung. Deshalb wurde abfiltriert und das Filtrat bis zur völligen Trockene eingedampft. Der Rückstand des eingeengten Filtrates wies eine glasige, poröse, schwach klebrige Beschaffenheit auf.

Mit beiden Rückständen wurden Lösungsversuche gemacht:

a) Filtrationsrückstand:

Lösungsmittel:	Einwirkung:
Äther	kaum löslich
Alkohol	fast vollständig löslich
Chloroform	teilweise löslich, mit Abscheidung
Wasser	unlöslich
Essigäther	unvollständig löslich
Aceton	unvollständig löslich, Farbstoff lösend
Methanol	unvollständig löslich

b) Eingedicktes Filtrat:

Lösungsmittel:	Einwirkung:
Äther	unlöslich
Alkohol	wenig löslich
Essigäther	wenig löslich
Chloroform	wenig löslich
Aceton	wenig löslich, Farbstoff lösend
Wasser	unlöslich

Hatten wir mit diesen 6 Versuchsperkolaturen wohl einen Einblick in die besonderen Eigenschaften des Lösungsvermögens unserer Droge erhalten, so war damit jedoch noch nicht die Frage der Reihenfolge der anzuwendenden Extraktionsmittel geklärt. Eine zweite Versuchsreihe sollte uns daher über die Reihenfolge der im Gang nacheinander erfolgenden Auszüge Klarheit verschaffen.

Perkolation II.

Zu diesen Versuchen wurden die unter Perkolation I erwähnten, mit Chloroform, Benzol und Äther vorextrahierten Drogenrückstände verwendet.

1. Die im Vorhergehenden beschriebenen 50 g Droge, welche bereits mit Petroläther und Chloroform erschöpfend behandelt worden waren (siehe Perkolation I. 5.), wurden nunmehr mit Essigäther ausgezogen. Das gewonnene Perkolationsgut wurde im Vacuum eingeengt. Lösungsversuche ergaben ein mit den bereits beim Petroläther-Essigäther-Auszug (siehe Seite 23) erhaltenen Ergebnissen übereinstimmendes Bild. Infolgedessen lösten wir das gewonnene Extrakt kalt in wenig Methanol, ließen über Nacht absitzen und filtrierten hierauf von der hellgrünen Abscheidung ab. Weitere Isolierungsversuche mit verdünntem und konz. Alkohol und Methylalkohol, Reinigung durch Kohlefiltration u. s. w. führten zu keinem befriedigenden Ergebnis. Aus dem Essigäther-Methylalkohol-Filtrat schieden sich nach längerem Stehen im Eisschrank die unter I. 3. (siehe Seite 23) beschriebenen doppelrhomboedrischen Kristalle in geringer Zahl aus, sodaß auch hier eine Identitätsprüfung infolge mangelnder Substanz unterbleiben mußte.

2. Die durch Petroläther-Benzol erschöpfte Droge (siehe I. 4. Seite 24) wurde mit Äther ausgezogen und das Lösungsmittel durch Destillation entfernt. Die mit dem salbenartigen Rückstand angestellten Lösungsversuche ergaben Folgendes:

Lösungsmittel:	Einwirkung: kalt:	warm:
Alkohol . . .	unvollständig, weißgelber Niederschlag	vollständig
Essigäther . .	unvollständig, gelber Niederschlag	vollständig
Methanol . .	fast vollständig, weißer Niederschlag	vollständig
Aceton . . .	fast vollständig, weißer Niederschlag	vollständig
Chloroform .	unvollständig	unvollständig

Da bei keinem dieser Versuche einheitliche Körper zu gewinnen waren, wurde diese Methode verlassen.

3. a) Die durch Petroläther und Äther erschöpfend extrahierte Droge (siehe I. 2. Seite 23.) wurde nunmehr mit Chloroform perkoliert.

Nach Wegnahme des Chloroforms im Vacuum verblieb eine honigartige, grünliche Masse. Die damit angestellten Lösungsversuche hatten folgendes Ergebnis:

Lösungsmittel:	Einwirkung: kalt:	warm:
Alkohol	teilweise löslich, weißgrüner Niederschlag	Niederschlag
Methanol	teilweise löslich, weißgrüner Niederschlag	ballt sich
Aceton	teilweise löslich, weißgrüner Niederschlag	zusammen
Essigäther	fast vollständig löslich	unverändert
Äther	teilweise löslich, Abscheidung	unverändert

3. b) Der nach der erschöpfenden Perkolation mit Chloroform (siehe II. 3. a) verbleibende Drogenrückstand wurde, nachdem er also bereits mit Petroläther-Äther-Chloroform vorbehandelt war, mit Aceton ausgezogen.

Nach Wegnahme des Lösungsmittels im Vacuum verblieb ein grünes, sprödes und leicht pulverisierbares Extrakt, mit welchem wir Lösungsversuche machten, die folgendes Ergebnis zeigten:

Lösungsmittel:	Einwirkung:
Alkohol	völlig löslich
Methylalkohol	fast völlig löslich
Petroläther	unlöslich
Äther	unlöslich
Chloroform	teilweise löslich
Aceton	völlig löslich
Benzol	unlöslich
Wasser	unlöslich
Essigäther	teilweise löslich

3. c) Der aus der vorhergehenden Perkolation (II 3. b) verbleibende Drogenrückstand, der also schon mit Petroläther-Äther-Chloroform-Aceton vorbehandelt war, wurde mit Methylalkohol erschöpfend im Perkolator ausgezogen. Nach Wegnahme des Lösungsmittels im Vacuum verblieb ein hellgrünes, leicht pulverisierbares Extrakt. Die damit angestellten Lösungsversuche zeigten Folgendes:

Lösungsmittel:	Einwirkung:
Äther	unvollkommen löslich
Essigäther	unvollkommen löslich
Aceton	unvollkommen löslich
Alkohol	wenig löslich
Methylalkohol	wenig löslich
Chloroform	unlöslich

3. d) Der aus der vorhergehenden Perkolation (II. 3. c) verbleibende Drogenrückstand, der nunmehr mit Petroläther-Äther-Chloroform-Aceton-Methylalkohol bereits vorbehandelt war, wurde

mit 90%igem Alkohol erschöpfend perkoliert. Als Rückstand blieb nach Wegnahme des Alkohols im Vacuum ein braunes Trockenextrakt, mit welchem wir folgende Lösungsversuche machten:

Lösungsmittel:	Einwirkung:
Alkohol 80%	teilweise löslich, heller Rückstand
Äther	wenig löslich
Methylalkohol	fast völlig löslich
Essigäther	wenig löslich
Chloroform	wenig löslich
Aceton	teilweise löslich, heller Rückstand.

3. e) Der aus der vorhergehenden Perkolation (II. 3. d) verbleibende Drogenrückstand, der schon mit Petroläther-Äther-Chloroform-Aceton-Methylalkohol-Alkohol 90% vorbehandelt war wurde nun noch mit 10%igem Alkohol erschöpfend perkoliert; der dunkelbraune Rückstand zeigte nach Einengung im Vacuum folgende Lösungsverhältnisse:

Lösungsmittel:	Einwirkung:
Wasser	fast völlig löslich
Alkohol 90%	teilweise löslich
Methanol	teilweise löslich
Äther	unlöslich
Essigäther	unlöslich
Aceton	unlöslich
Petroläther	unlöslich
Chloroform	unlöslich

Diese unter II. 3. a) bis e) geschilderten Vorversuche, in welchen der Reihe nach mit den daselbst erwähnten Lösungsmitteln extrahiert wurde, zeigten, daß man aus der Droge sukzessive verschiedene Fraktionen herauslösen kann. Wenn die mit den einzelnen dieser Fraktionen durchgeführten, vorläufigen Lösungsversuche noch nicht erwiesen, ob auf diese Weise definitive Bestandteile isoliert werden können, so schien die geschilderte Extraktionsmethode den Weg zu diesem Ziel zu weisen. Dementsprechend wurde mit denselben Lösungsmitteln eine große Drogenmenge im Hauptversuche der Reihe nach extrahiert mit der einzigen Abänderung, daß man am Schlusse statt mit 90%igem und 10%igem Alkohol nur mit einem solchen von 50% extrahierte, da eine während der Hauptuntersuchung zu diesem Zwecke durchgeführte Extraktbestimmung (siehe Seite 41) gezeigt hatte, daß durch letzteren ebensoviel Extraktstoffe herausgelöst werden, wie durch die ersten beiden zusammen.

Hauptuntersuchung.

Perkolation A.

Auf Grund der unter Perkolation II. 3. geschilderten Vorversuche wurde eine größere Drogenmenge der Reihe nach mit folgenden Lösungsmitteln ausgezogen:

1. Petroläther
2. Äther
3. Chloroform
4. Aceton
5. Methylalkohol
6. Alkohol.

1. Petroläther-Auszug.

2 kg selbstgemahlene Droge wurden zwecks besserer Entfernung von Chlorophyll durch Petroläther, zunächst mit Alkohol befeuchtet, den man einige Stunden einwirken ließ, worauf die Droge wieder getrocknet wurde. Die so vorbehandelte Droge perkolierte man mit 12 kg Petroläther.

Der auf ca. 250 ccm eingeengte Petrolätherauszug wurde in einer Glasschale in den Eisschrank verbracht. Es erfolgte nur eine geringe Abscheidung, weshalb die Lösung vollkommen von Petroläther befreit wurde. Als Rückstand verblieben 37 g eines dunkelgrünen, zähflüssigen Öles, entsprechend 1,85%.

Trennungsversuch: Dieser Rückstand wurde mit 96%-igem Alkohol eine Stunde am Rückflußkühler auf dem Wasserbad erhitzt, wobei eine teilweise Lösung erfolgte. Auf diese Weise wurde noch zweimal heiß mit Alkohol extrahiert. Die nach jeweiligem Erhitzen heiß filtrierten Alkohollösungen wurden

unbeachtet der nach dem Erkalten eintretenden Ausflockung im Vacuum eingeengt. Dieser Teil des Petrolätherauszugs wird im Folgenden als

Alkohollöslicher Teil (A),

der nach Behandlung mit Alkohol am Rückflußkühler sich ergebende Rückstand als

Alkoholunlöslicher Teil (B)

bezeichnet.

Die mit dem alkohollöslichen Teil (A) angestellten Lösungsversuche ergaben, daß dieser in Essigäther und Chloroform vollständig löslich, in Alkohol und Methylalkohol unvollständig und in Äther und Aceton nur teilweise löslich war. Aus Aceton und noch mehr aus Äther schieden sich weiße Massen aus.

Nach völliger Eintrocknung im Vacuumexsiccator wurde der 12 g betragende Rückstand mit Äther behandelt. Der darin unlösliche Teil war jedoch so gering, daß auf die Weiteruntersuchung derselben verzichtet werden mußte. Die Ätherlösung wurde daher völlig vom Lösungsmittel befreit, der verbleibende, zähe Rückstand wurde mit alkoholischer Kalilauge verseift. Nach Wegnahme von $^3/_5$ des Alkohols wurde die Lösung mit destilliertem Wasser verdünnt und mit Äther im Scheidetrichter ausgeschüttelt. Der nach dem Abdampfen des Äthers verbleibende Rückstand wird im Folgenden I. A. α bezeichnet. Die wässerige alkalische Lösung säuerte man mit Salzsäure an, schüttelte schließlich mit Äther aus und verdampfte den letzteren = I. A. β.

Der Rückstand I. A. α war teilweise in Aceton löslich. Dementsprechend trennte man ihn in einen acetonlöslichen Teil (I. A. α L.), und einen acetonunlöslichen Teil (I. A. α U.).

Die Acetonlösung I. A. α L. ließ man einige Zeit im Eisschrank stehen. Die geringfügige Ausscheidung aus Aceton versuchte man umzukristallisieren, erhielt aber nur eine harzartige Substanz, die schließlich infolge der geringen Menge vernachlässigt werden mußte. Auch aus dem Filtrat konnte nichts Einheitliches isoliert werden.

Der Rückstand I. A. α U. erwies sich als in heißem Alkohol fast völlig löslich. Dementsprechend wurde er mit solchem behandelt und die Lösung von einem geringfügigen Rückstand, der vernachlässigt wurde, abgetrennt. Nach Aufbewahrung dieses Filtrates im Eisschrank schied sich eine undeutlich kristalli-

nische Substanz aus, von welcher auch aus der Mutterlauge bei weiterem Einengen noch mehr erhalten wurde. Die Ausscheidungen wurden gesammelt und mehrmals aus heißem Alkohol unter Zusatz von Entfärbungskohle umkristallisiert. Man erhielt so annähernd farblose ineinander verfilzte, gekrümmte Nädelchen, die sehr schwer von der Mutterlauge zu trennen waren. Da bei den Umkristallisationen große Verluste entstanden, war es nicht möglich, eine genügende Menge zur näheren Charakterisierung zu erhalten. Dem Aussehen und Verhalten nach dürfte es sich um einen höheren Kohlenwasserstoff oder einen wachsartigen Körper handeln.

Der aus der alkalischen Verseifung stammende Teil I. A. α war so gering, daß auf eine Weiteruntersuchung verzichtet werden mußte.

Der alkoholunlösliche Teil I. B. des Petrolätherextraktes war vollkommen löslich in Äther, Chloroform, Benzol, teilweise löslich in Petroläther und Essigäther, fast gar nicht löslich in Methylalkohol und teilweise löslich in heißem Aceton. In dieser Lösung trat nach dem Abkühlen eine Abscheidung ein.

Dementsprechend wählte man als Trennungsmittel Aceton. Der gesamte Rückstand wurde am Rückflußkühler mit Aceton erhitzt, wobei teilweise Lösung erfolgte. Die Lösung wurde abfiltriert und der in Aceton unlösliche Rückstand (I. B. r.) auf dem Filter gesammelt. Nach noch zweimal erfolgtem Ausziehen dieses Rückstandes mit Aceton am Rückflußkühler wog dieser 5,3 g und hatte eine dunkelgrüne Beschaffenheit. Die filtrierte Acetonlösung wurde im Vacuum eingeengt. Als Rückstand (I. B. f.) verblieb eine dunkelgrüne, schmierige Masse von 10 g Gewicht, deren Aufarbeitung erfolglos war.

Der in Aceton unlösliche Rückstand I. B. r. wurde verseift, indem man ihn mit ca. 150 ccm einer 20%igen alkoholischen Kalilauge am Rückflußkühler ca. 2 Stunden kochte. Von einem dabei verbleibenden geringen unlöslichen Anteil wurde abfiltriert. Nach Abdestillieren der Hauptmenge des Alkohols und Verdünnen mit Wasser wurde dreimal mit Äther ausgeschüttelt, die vereinigten Ätherlösungen mit Natrium sulfuricum siccum getrocknet. Beim langsamen Verdunsten der Ätherlösung schieden sich neben einer kautschukartigen, hellgrünen Masse geringe Mengen von farblosen Blättchen aus.

Die erstere konnte durch Benzol zu einem großen Teil entfernt werden. Den Rückstand versuchte man aus Methylalkohol umzukristallisieren. Es gelang jedoch nicht, die Kristalle vollständig von der grünen Beimengung zu befreien. Mit dem schließlich verbleibenden geringen Rest wurden die üblichen Phytosterinreaktionen ausgeführt, die positiv verliefen. Es handelt sich also bei dem kristallisierten Körper zweifellos um ein Phytosterin.

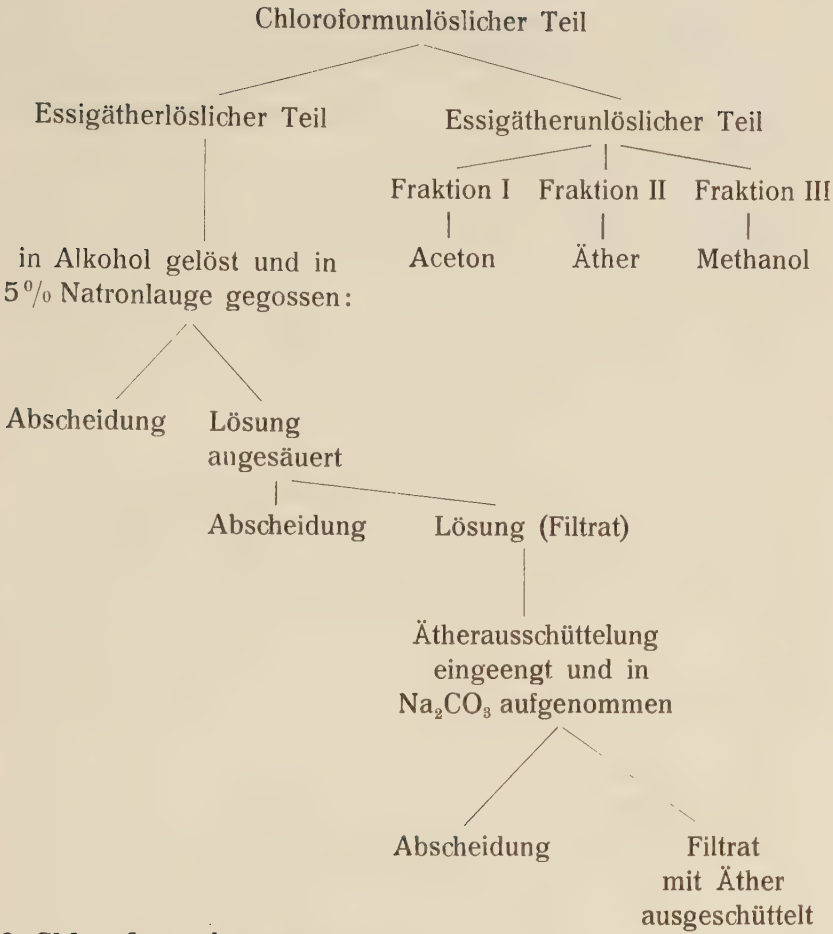
Aus der mit Äther erschöpften alkalischen Seifenlösung erhielt man nach Ansäuern und Ausschütteln mit Äther nur einen so geringen Anteil, daß eine weitere Untersuchung desselben nicht möglich war.

2. Äther-Auszug.

Nach Erschöpfung der Droge durch Petroläther wurde diese auf Papier ausgebreitet, an der Luft getrocknet, in den Perkolator eingefüllt und mit 12 kg Äther perkoliert. Nach Abdestillierung des Äthers erhielt man 45 g einer klebrigen, zähflüssigen, dunkelgrünen Masse. Nachdem schon die Vorversuchsreihe (siehe Seite 23) gezeigt hatte, daß sich dieses Extrakt mit Chloroform zerlegen läßt, wurde der gesamte Rückstand am Rückflußkühler mit diesem Lösungsmittel gekocht. Nach dem Erkalten filtrierte man ab und erhielt so einen chloroformlöslichen (2. A.) und einen chloroformunlöslichen Teil (2. B.)

Zahlreiche Versuche mit den verschiedensten Lösungsmitteln, aus dem Rückstand der Chloroformlösung (2. A.) einen kristallinischen Körper zu gewinnen, waren erfolglos, sodaß auf die Schilderung der diesbezüglichen Bemühungen hier verzichtet werden kann. Die einzige Substanz von einigermaßen charakteristischer Beschaffenheit, die man bei diesen Versuchen erhielt, war ein kautschukartiger Körper, dessen Menge jedoch für eine weitere Untersuchung viel zu gering war.

Über die ebenfalls erfolglosen Versuche, den chloroformunlöslichen Teil (2. B.) aufzuarbeiten, gibt nachstehendes Schema Auskunft:



3. Chloroform-Auszug.

Nach der Erschöpfung durch Äther wurde die Droge auf Papier ausgebreitet und lufttrocken gemacht, wieder in den Perkolator eingefüllt und mit 15 kg Chloroform perkoliert. Die Chloroformlösung dampfte man bis zur Konsistenz eines zähflüssigen Extraktes ein. Dieses wurde kalt mit Äther verrührt, über Nacht stehen gelassen. Auf diese Weise entfernte man die noch in der Droge vorhandenen ätherlöslichen Anteile, die bei der Perkolation mit Äther (auf Seite 26) nicht vollständig ausgezogen worden waren. Derart konnte das Erschöpfen der Droge mit Äther umgangen und erhebliche Mengen dieses Lösungsmittels eingespart werden. Das nach dieser Vorbehandlung verbleibende Extrakt wog 23 g. Mit diesem wurde der chloroformlösliche Teil (auf Seite 32) vereinigt.

Nachdem verschiedene Versuche, dieses so gewonnene Chloroformextrakt durch indifferente Lösungsmittel zu zerlegen, fehlgeschlagen waren, unterwarf man die gesamte Menge der Verseifung.

Zu diesem Zweck behandelte man die noch verbleibenden 20 g Extrakt zwei Stunden lang am Rückflußkühler mit 20%iger alkoholischer Kalilauge. Die Seifenlösung wurde durch Erhitzen auf dem Wasserbad vom Alkohol fast völlig befreit und mit ca. 100 ccm Wasser ergänzt, in einen geräumigen Scheidetrichter gespült. Nach völliger Abkühlung schüttelte man die wässerige Lösung mit Äther mehrmals aus, trocknete die vereinigten Ätherlösungen mit entwässertem Natriumsulfat und destillierte das Lösungsmittel ab (= 3. V. a).

Die nach Abtrennung der ätherischen Schicht veibleibende wässerige, alkalische Lösung wurde mit Schwefelsäure sauer gemacht. Es erfolgte eine Abscheidung schmieriger Klumpen, die bei der nun erfolgenden Ätherausschüttelung nicht vollständig in Äther löslich waren. Dieser ätherunlösliche Rest wurde der geringen Menge halber unberücksichtigt gelassen. Die Ausschüttelung trocknete man auf übliche Weise und destillierte den Äther ab (= 3. V. s.).

Der gelbbraune, glasig spröde Rückstand (3. V. a) war in Benzol, Methylalkohol, Chloroform und Alkohol fast völlig löslich, in Äther, Petroläther, Essigäther und Aceton nur teilweise löslich mit Abscheidung nach dem Erkalten. Der Versuch, mit Äther eine Trennung herbeizuführen, scheiterte daran, daß der in Äther unlösliche Teil als gallertige, klebrige Masse das Filter derartig verstopfte, daß eine Trennung nicht möglich war. Es wurde daher ein weiterer Trennungsversuch mit Essigäther unternommen. Die Substanz wurde heiß in Essigäther gelöst und durch einen elektrischen Heißwassertrichter filtriert. Beim Erkalten der Lösung und mehr noch im Eisschrank erfolgte eine gründliche, flockige Ausscheidung, die abzentrifugiert und mit kaltem Essigäther ausgewaschen wurde (3. V. a. R.). Die vereinigten gelbgefärbten Essigätherlösungen dampfte man im Vacuum ein (3. V. a) L.).

Die hellgrüne amorphe Masse (3. V. a) R.) wurde sofort mit heißem Chloroform versetzt, welches reichlich grünen Farbstoff herauszulösen vermochte. Den abgetrennten Rückstand behandelte man in gleicher Weise ein zweites Mal. Er besaß

eine grauweiße Farbe und bestand, unter dem Mikroskop betrachtet, aus amorphen tröpfchenförmigen Gebilden. Es war nicht möglich, dieselben kristallinisch zu erhalten; sie gaben folgende Phytosterin-Reaktionen:

Hesse's Reaktion: Etwas Substanz wurde in Chloroform gelöst und mit konz. Schwefelsäure versetzt. Nach dem Umschütteln der beiden Flüssigkeiten färbte sich das Chloroform rot.

Liebermann's Reaktion: Etwas Substanz wurde in Essigsäureanhydrid unter Erwärmen gelöst. Nach Abkühlung mit einem Tropfen Schwefelsäure versetzt, trat eine Rotfärbung ein, die in Violett umschlug.

Der in Essigsäure lösliche Teil (3. V. a) L.) wog 3,5 g und bestand aus einer glasigen, spröden, dunkelgelben Masse. Aus heißem Methylalkohol schieden sich kleine Mengen farbloser Nädelchen ab, die aus demselben Lösungsmittel umkristallisiert wurden und schließlich einen bei 69 ° konstant bleibenden Schmelzpunkt zeigten.

Den Rückstand des sauren Äther-Auszuges (3. V. L.) untersuchte man auf:

Fettsäuren

(Methode nach Varrentrapp)[1])

Man löste den Rückstand heiß in Alkohol und versetzte die Lösung mit heißer gesättigter Bleiacetatlösung. Es erfolgte ein starker Niederschlag. Die wässerige Lösung wurde abgegossen und die Bleisalze der Fettsäuren mit heißem Wasser dreimal ausgewaschen, dann mit absolutem Alkohol nachgespült und hierauf mit Äther am Rückflußkühler erhitzt.

Die ätherische Lösung filtrierte man ab und engte auf ein geringes Volumen ein. Sodann wurde die Lösung mit verdünnter Salzsäure (1 Teil HCl und 4 Teile H_2O) solange geschüttelt, bis die wässerige Lösung keine Farbe mehr zeigte. Hierauf wusch man die ätherische Lösung mit Wasser, trocknete mit Natrium sulfuricum siccum und engte ein. Als Rückstand verblieb eine harzige, aromatisch riechende, gelbe Masse, jedoch von so geringer Ausbeute, daß eine weitere Untersuchung unterbleiben mußte.

[1]) Rosenthaler, L., Grundzüge der Pflanzenuntersuchung, Berlin 1928, Seite 64.

Die auf dem Filter befindlichen mit Äther ausgewaschenen, in Äther unlöslichen Bleisalze der festen Fettsäuren wurden mit verdünnter Salzsäure (1:4) in den Kolben zurückgebracht und eine halbe Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Nachdem sie im Eisschrank abgekühlt waren, schüttelte man sie mit Äther aus. Die ätherische Lösung wurde sodann mit Wasser nachgewaschen und mit Natrium sulfuricum siccum getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand bildete eine harzig-aromatisch riechende, dunkelbraune Masse. Auch verblieb nur ein so geringer Rest, daß von einer weiteren Untersuchung Abstand genommen werden mußte.

4. Aceton-Auszug.

Nach annähernder Erschöpfung der Droge durch Chloroform wurde diese auf Papier ausgebreitet, lufttrocken gemacht, wieder in den Perkolator eingefüllt und mit 5 kg Aceton perkoliert. Nach Wegnahme des Acetons durch Vacuumdestillation erhielt man 58 g eines grünen, leicht pulverisierbaren Trockenextraktes. Dieses wurde über Nacht mit ca. 500 g Chloroform kalt ausgezogen, wobei nach Lösung eines Teiles fast die ganze Substanz des Acetonextraktes als kompakte Masse auf dem Chloroform schwamm. Mit weiteren 500 g Chloroform wurde der abfiltrierte chloroformunlösliche Rückstand nachbehandelt. Die Chloroformlösung ergab nach Einengen im Vacuum 13 g Extrakt. Diese gelangten zur Weiterverarbeitung zum Chloroformauszug (auf Seite 29).

Mit dem nach dieser Vorbehandlung mit Chloroform endgültig verbleibenden Acetonextrakt wurden Lösungsversuche ausgeführt, die zeigten, daß dieses in Alkohol und Aceton völlig, in Methylalkohol nur teilweise löslich war und in Wasser in der Wärme zum Teil in Lösung ging. Nach Abkühlung der wässerigen Lösung entstand eine milchigweiße Trübung.

Auf Grund der Ergebnisse im Lösungsversuch wurde das gesamte Extrakt (nach der Chloroformvorbehandlung verblieben noch 45 g) mit Wasser auf dem Wasserbad eine halbe Stunde lang erwärmt. Diese Extraktion wurde noch zweimal wiederholt. Die Lösung (4. A.) wurde jeweils durch Filtration von dem wasserunlöslichen Rückstand (4. B.) getrennt. Das Filtrat 4. A. stellte in der Hitze eine weiße Emulsion dar, die beim Verweilen im Eisschrank sich trennte und aus der sich ein klares,

braunes Öl am Boden abschied. Da dieses, wie ein Vorversuch zeigte, sodalöslich war, wurde es mit dem wasserunlöslichen Rückstand 4. B. zusammenverarbeitet. Nach Abtrennung des ausgeschiedenen Öles verblieb eine gelbe, klare, wässerige Flüssigkeit, die im Vacuum zur Trockene eingeengt wurde. Man erhielt etwa 5 g eines gelbbraunen, leicht klebrigen Extraktes. Kristallisationsversuche führten zu keinem Ergebnis.

Der vom Öl abgetrennte Teil von 4. A. wurde im Vacuum zur Trockene gebracht. Lösungsversuche mit diesem Extrakt ergaben, daß es in Äther und Essigäther gar nicht, in Aceton und Alkohol teilweise und in Methylalkohol teilweise mit einer Abscheidung nach dem Erkalten löslich war.

Rückstand 4. A. wurde daher in heißem Methylalkohol gelöst und von dem beim Erkalten Ausgeschiedenen abfiltriert. Letzteres mußte der geringen Menge wegen vernachlässigt werden. Die Methylalkohollösung wurde auf ein kleines Volumen eingeengt. Nach einigen Tagen erfolgte eine Ausscheidung, die unter dem Mikroskop betrachtet das Aussehen von kleinen Fettkügelchen hatte. Unbeachtet dieser ließ man die Flüssigkeit völlig eindunsten. Als Rückstand verblieb eine zähe, gelbe, honigartig klebrige Masse von kratzendem bitteren Geschmack. Sie waren aceton- und essigätherunlöslich, in Methylalkohol völlig und in Alkohol teilweise löslich. Wir vermuteten in der honigartigen Masse einen Bitterstoff und versuchten eine Isolierung dieses Körpers durch Behandeln mit Äthylalkohol in der Hitze, wobei ein großer Teil löslich war. Der in Äthylalkohol unlösliche Teil erwies sich als methylalkohollöslich und ergab in Äther gegossen eine helle Fällung, die sich nach längerem Stehen als brauner Niederschlag absetzte. Beim Erkalten der Äthylalkohollösung erfolgte eine weitere Abscheidung, welche an der Wandung des Glases haften blieb und sich als wasserlöslich und nur mehr schwach bitterschmeckend erwies. Die Äthylalkohollösung wurde abfiltriert und in den Exsiccator gebracht. Es erfolgte jedoch nur eine ganz geringe Abscheidung, weshalb das Ganze mit Wasser behandelt wurde, wobei nunmehr eine wasserunlösliche Abscheidung erfolgte, die man abfiltrierte. Es gelang jedoch in keiner Weise, den gesuchten Bitterstoff kristallisiert zu erhalten.

Der Rückstand 4. B. des wasserunlöslichen Teiles des Acetonauszuges wurde feingepulvert und mit 5%iger Sodalösung versetzt, wobei etwa die Hälfte in Lösung ging. Nach der

Trennung durch Filtration erhielt man so einen sodaunlöslichen Rückstand (4. B. U.) und einen sodalöslichen Anteil, das Filtrat (4. B. L.)

Das Filtrat wurde sofort angesäuert. Die Lösung trübte sich und ließ eine zähe, knetbare Masse abscheiden, welche auf der Oberfläche schwamm und durch Filtration abgetrennt wurde. Auf diese Weise erhielt man eine Abscheidung (4. B. L. a) und ein Filtrat (4. B. L. f). Letzteres wurde mit Äther ausgeschüttelt. Die saure wässerige Lösung wurde weggeschüttet und der Äther eingedampft. Als Rückstand verblieb eine dunkelgelbe, honigartige Masse, deren geringe Ausbeute keine weiteren Untersuchungen zuließ.

Die Abscheidung (4. B. L. a) bildete eine zähe Masse, welche mit Wasser durch Auskneten gereinigt und im Exsiccator getrocknet wurde. Beim Verweilen im Exsiccator blähte sie sich stark auf. Der getrocknete Rückstand bildete ein poröses, leicht pulverisierbares, hellbraunes Extrakt, das 6 g wog. Dieses war in Methylalkohol völlig, in Alkohol 90%, Äther und Essigäther unvollkommen, in Alkohol 50% und Lauge fast völlig, sowie in Aceton teilweise unter Aufhellung des Rückstandes löslich. Mit diesem Extrakt wurden noch Gerbstoffreaktionen durchgeführt; Eisenchlorid gab eine grüne Färbung, Kaliumdichromat eine braune Fällung. Offenbar handelte es sich also um Phlobaphene oder ähnliche Produkte.

Der sodaunlösliche Rückstand (4. B. U.) wurde sofort mit 5%iger Kalilauge übergossen, worin er sich vollständig mit tiefdunkelbrauner Farbe löste. Hierauf sogleich angesäuert, entstand ein hellgrüner Niederschlag, der abgenutscht, mit reichlich destilliertem Wasser nachgewaschen und im Exsiccator getrocknet wurde. Er wog darnach 23 g. Damit angestellte Lösungsversuche ergaben, daß er in Alkohol 90%, Alkohol 50%, Äther, Aceton und Essigäther unvollkommen, in Methylalkohol fast völlig und in Lauge teilweise löslich war.

Acetylierungsversuch.

5 g des Rückstandes 4. B. U. wurden mit 5 g Natriumacetat und 50 g Essigsäureanhydrid am Rückflußkühler zwei Stunden lang gekocht und in eine reichliche Menge Wasser eingegossen. Unter ständigem Rühren ließ man die anfangs zähflüssige Masse erstarren. Hierauf wurde abgenutscht und im Exsiccator getrocknet.

Die damit angestellten Lösungsversuche ergaben, daß das gewonnene Produkt in Alkohol, Äther, Methylalkohol, Sodalösung und Lauge unvollkommen, in Aceton und Essigäther fast völlig löslich war. Da ein einheitlicher Körper daraus nicht gewonnen werden konnte, wurde es nicht weiter untersucht.

5. Methylalkohol-Auszug.

Nach annähernder Erschöpfung der Droge durch Aceton wurde diese auf Papier ausgebreitet und getrocknet, wieder in den Perkolator eingefüllt und mit Methylalkohol perkoliert, wozu 7 kg Lösungsmittel nötig waren. Die Ausbeute betrug 80 g Extrakt. Eine Vorbehandlung des Extraktes mit Aceton, analog dem in den vorhergehenden Auszügen angewandten Verfahren, mußte unterbleiben, da fast alles Extrakt in Aceton löslich war. Die Lösungsversuche mit dem Extrakt ergaben, daß es in Äther und Essigäther unvollkommen, in Methylalkohol und Alkohol wenig löslich und in Chloroform unlöslich war.

Nach $2^1/_2$ monatlichem Stehen des Methylalkoholextraktes im Schwefelsäureexsiccator während der Ferien, hatte sich wasserfreies Chlorcalcium, das in einem Stoffbeutel auf das Extraktgefäß gelegt worden war, durch Wasseraufnahme soweit verflüssigt, daß dieses in das Extrakt gelaufen war und sich mit ihm vermengt hatte. Das so verunreinigte Extrakt wurde fein gepulvert und mit Wasser ausgezogen. Die wässerige Lösung, die ja doch vorzugsweise $CaCl_2$ enthielt, blieb unberücksichtigt. Der abfiltrierte, noch zähe, fadenziehende, wasserunlösliche Teil wurde erneut in Methylalkohol heiß gelöst, wobei beim Erkalten hellgrüne Flocken sich ausschieden, welche abgenutscht wurden. Diese in Methylalkohol schwer lösliche Abscheidung mußte man der geringen Ausbeute wegen vernachlässigen.

Die dunkelgrüne Methylalkohollösung wurde im Vacuum eingeengt und ergab nach dem Trocknen im Exsiccator eine Ausbeute von 43 g Extrakt, mit welchem man Lösungsversuche anstellte, die zeigten, daß es in Äther, Essigäther und Wasser kaum, in Lauge und Sodalösung völlig, in Alkohol und Aceton teilweise löslich war, wobei Aceton sehr viel Farbstoff zu lösen vermochte. Es wurde daher die Gesamtmenge des Extraktes ca. 5 mal am Rückflußkühler auf dem Wasserbad mit Aceton ausgezogen und die vereinigten Acetonlösungen im Vacuum zur Trockene gebracht. Trotz eingehender Versuche, welche mit die-

sem Extrakt unternommen wurden, vermochten wir zu keinem einheitlichen Resultat zu gelangen.

Der im Exsiccator getrocknete, acetonunlösliche Rückstand wog 26 g. Mit diesem durchgeführte Lösungsversuche zeigten, daß er in Äther, Essigäther und Chloroform unlöslich, in Alkohol unvollkommen, in Methylalkohol und Wasser teilweise, in Sodalösung fast völlig und in Lauge fast völlig löslich war. Im übrigen wurde beobachtet, daß die wässerige Lösung stark schäumte.

Auf Grund der Ergebnisse in den Lösungsversuchen wurde die Gesamtmenge mit Wasser aufgenommen, wobei teilweise Lösung erfolgte. Der wasserunlösliche Anteil wurde abfiltriert. Nach dem Trocknen im Exsiccator stellte er 10 g eines schwarzbraunen Extraktes dar, dessen Aufarbeitung nach verschiedenen Methoden erfolglos blieb.

Im Filtrat schied sich innerhalb 2 Tagen ein Körper aus, der abzentrifugiert wurde. Hierauf wurde die klare wässerige Lösung im Vacuum vorsichtig zur Trockene eingedampft. Die Ausbeute betrug 15 g. Vorversuche mit diesem Extrakt hatten gezeigt, daß er in Alkohol teilweise in Lösung ging und auf Zusatz von Äther eine geringe Ausflockung ergab. Methylalkohol verhielt sich ähnlich, nur mit dem Unterschied, daß beim Eingießen der methylalkoholischen Lösung in Äther ein viel stärkerer Niederschlag entstand.

Infolgedessen wurde die Gesamtmenge in ca. 400 ccm gelöst, wobei sich bis auf einen geringen hellen Bodensatz fast alles löste. Die Methylalkohollösung ließ man bis zur völligen Klärung im Eisschrank absitzen und filtrierte sie sodann. Der exsiccatortrockene Rückstand, welcher 2 g wog, blieb unberücksichtigt. Das klare Filtrat wurde in eine ausreichende Menge (ca. 1000 ccm) Äther unter ständigem Umschütteln in dünnem Strahl eingegossen, wobei eine gelbliche Ausflockung entstand. Im Eisschrank ließ man über Nacht absitzen und nutschte hierauf ab. Der Filtrationsrückstand war so stark hygroskopisch, daß nur eine erneute Lösung in Methylalkohol mit darauffolgender Vacuumdestillation zu einem zufriedenstellenden Trockenpräparat führte. Da das Präparat in Wasser gelöst einen starken, anhaltenden Schaum beim Schütteln erzeugte, lag die Vermutung nahe, daß es sich um ein Saponin handle. Zur Bestätigung dieser Annahme führte man die Schwefelsäurereaktion und einen Haemolyseversuch durch. In Schwefelsäure löste sich das Produkt mit

roter Farbe auf. Beim Vermischen mit defibriniertem Hammelblut zeigte die Lösung deutliche Haemolyse. Weitere Angaben siehe den Abschnitt: Das Saponin aus Baccharis genistelloides (Seite 55).

6. Spiritus-Auszug.

Zur Auffindung der geeigneten Spirituskonzentration wurden folgende Vorversuche ausgeführt:

Extraktbestimmung:

I. 20 g Droge, welche mit den im Vorhergehenden besprochenen Lösungsmitteln behandelt worden waren, wurden zweimal mit je 200 ccm 80%igem Alkohol 1 Stunde lang am Rückflußkühler auf dem Wasserbad ausgezogen, in eine Abdampfschale filtriert und die vereinigten Filtrate eingedampft. Sie ergaben 2 g Extrakt, entsprechend einer Ausbeute von 10%. Anschließend wurde die mit Alkohol ausgezogene Droge mit 150 ccm Wasser 8 Tage lang mazeriert. Hierauf wurde die wässerige Lösung in eine Abdampfschale filtriert, zur Trockene gebracht und der Rückstand gewogen. Diese Extraktbestimmung ergab 0,16 g, entsprechend einer Ausbeute von 0,8 %.

II. Unter den gleichen Bedingungen wurde ein zweiter Versuch mit 50%igem Alkohol angesetzt. Die Extraktbestimmung ergab gleichfalls 2 g, also 10%ige Ausbeute, und die nachfolgende Mazeration mit Wasser lieferte 0,2 g Extrakt, also 1%ige Ausbeute.

Da beide Vorversuche so ziemlich die gleiche Ausbeute versprachen und bewiesen hatten, daß ein wässeriger Auszug sich von vorneherein erübrigte, wurde die nun folgende Perkolation aus wirtschaftlichen Gründen mit 50%igem Alkohol durchgeführt.

Die an der Luft getrocknete Droge wurde mit 50%igem Alkohol ausgezogen, wozu 20 kg Lösungsmittel nötig waren. Das Perkolat wurde im Vacuumdestillationsapparat bei einer Temperatur von 30 bis 40° zur Trockene eingedampft, wobei 107 g Extrakt verblieben.

Vorversuche zur Auffindung eines Saponins.

I. 5 g Extrakt wurden mit 50 ccm Alkohol am Rückflußkühler erhitzt und heiß filtriert. Ohne Rücksicht auf die entstandene Ausscheidung beim Abkühlen des Filtrates wurde dieses

in Äther gegossen. Es erfolgte eine Ausflockung, welche abgenutscht wurde. Der Filtrationsrückstand war in Wasser leicht löslich, die wässerige Lösung gab beim Schütteln einen starken und anhaltenden Schaum.

II. 5 g Extrakt wurden mit 50 ccm Methylalkohol unter den gleichen Bedingungen wie bei I. behandelt. In derselben Weise wurde auch die methylalkoholische Lösung nach dem Erkalten in eine ausreichende Menge Äther gegossen. In diesem Falle erfolgte jedoch die Ausflockung bedeutend reichlicher. Die Fällung war leicht in Wasser löslich und beim Schütteln der wässerigen Lösung entstand ein starker und anhaltender Schaum.

Aufarbeitung des Spiritusextraktes.

95 g Extrakt wurden in ca. 1000 g destilliertem Wasser suspendiert, wobei ein in heißem Alkohol völlig, in kaltem Alkohol nur teilweise löslicher, wasserunlöslicher, schmutzig grüner Rückstand verblieb, der unberücksichtigt blieb.

Die klare, dunkelbraune, wässerige Extraktlösung wurde, nachdem sie filtriert worden war, im Vacuum eingeengt. Da die Lösung stark schäumte, wurde durch die Kapillare jeweils nur eine kleine Menge eingesaugt und diese erst wieder nach deren völliger Einengung ergänzt. Das auf diese Weise zur Trockene gebrachte Extrakt wog exsiccatortrocken 70 g.

Diese 70 g Trockenextrakt pulverte man fein und zog sie fünfmal mit je 300 ccm Methylalkohol am Rückflußkühler je eine halbe Stunde aus. Die vereinigten Auszüge wurden von dem methylalkoholunlöslichen Rückstand durch Filtration abgetrennt. Dieser wog exsiccatortrocken 40 g und wurde zur weiteren Aufarbeitung zum wässerigen Auszug der Perkolatur B gegeben.

Die Methylalkohollösung wurde, unbeachtet der beim Erkalten entstandenen Trübung, in dünnem Strahl in eine ausreichende, ca. 3 kg betragende Äthermenge gegossen. Die entstandene Ausflockung ließ man im Eisschrank absitzen und nutschte sie hierauf ab. Das Filtrat, eine grünlich gefärbte Methylalkohol-Äther-Mischung blieb unberücksichtigt. Der Filtrationsrückstand in der Nutsche bestand aus Rohsaponin, was wir vorläufig durch folgende Prüfung feststellen konnten:

1. Auf Schwefelsäure gestreut, färbte es diese intensiv rot.

2. Die Substanz war leicht wasserlöslich und erzeugte beim Schütteln einen starken anhaltenden Schaum.

3. Die Substanz vermochte rote Hammelblutkörperchen zu haemolysieren.

Dieses Rohsaponin war, wie fast alle aus Äther umgefällten Saponine, stark hygroskopisch. Wie man schon bei dem aus Methylalkoholextrakt gewonnenen Rohsaponin feststellen konnte, gelang nur auf folgendem Umweg ein exsiccatortrockenes Rohsaponin zu erhalten:

Das Rohsaponin wurde sofort nochmals in Methylalkohol gelöst, abermals mit Äther ausgefällt, schnell abgenutscht und der Filtrationsrückstand in der Nutsche sofort wieder in Methylalkohol aufgenommen. Diese Methylalkohollösung wurde dann im Vacuum zur Trockene eingedampft. (Weitere Aufarbeitung auf Seite 55.)

Perkolation B.

Mit 1300 g Droge wurde eine abgekürzte Perkolation B durchgeführt. Die Auswahl der bei diesem Perkolationsgang angewendeten Lösungsmittel richtete sich nach dem bei der vorausgegangenen Perkolation beobachteten Ausbeuten bezw. Resultaten. Die hier gewählten Lösungsmittel waren: 1. Petroläther, 2. Aceton, 3. Alkohol 50%, 4. Wasser.

1. Petroläther-Auszug.

Da ein Petrolätherextrakt bei der Perkolation A bereits aufgearbeitet worden war, wurde hier auf eine nochmalige Beschreibung der erfolglosen Bemühungen verzichtet.

2. Aceton-Auszug.

Aus 1300 g mit Petroläther vorbehandelter Droge erhielt man mit Aceton eine Extraktausbeute von 135 g. Bis zur völligen Erschöpfung der Droge waren 4 kg des Lösungsmittels notwendig. Das Extrakt hatte eine dunkelgrüne, spröde Beschaffenheit. Damit angestellte Lösungsversuche ergaben, daß das Extrakt in Alkohol und Methylalkohol völlig, in Äther, Essigäther, Chloroform, Wasser, Lauge und Sodalösung teilweise löslich war. Aus diesen Lösungsversuchen wählten wir Äther zur Behandlung des Extraktes. Das gesamte Extrakt wurde am Rückflußkühler mehrmals mit Äther ausgezogen und die Ätherlösung abfiltriert. Auf diese Weise erhielten wir einen ätherlöslichen (B. 2. α) und einen ätherunlöslichen Teil (B. 2. β).

Der zur Trockene eingedampfte ätherlösliche Teil (B. 2. α) wurde verseift, indem man ihn mit 20%iger alkoholischer Kalilauge zwei Stunden am Rückflußkühler kochte. Die Hauptmenge des Alkohols wurde auf dem Wasserbad abdestilliert, die verbleibende Lösung mit Wasser ergänzt und dreimal mit Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherausschüttelungen wurden zum Verdunsten beiseite gestellt. Nach einiger Zeit bildete sich in der gelben Lösung ein weißer, flockiger Niederschlag, der abgenutscht und aus Methylalkohol nochmals umkristallisiert wurde. Es verblieb schließlich eine kleine Menge weißer, gekrümmter, verfilzter Nädelchen, die gerade noch zur Bestimmung des Schmelzpunktes reichte. Derselbe lag bei 268°.

Die nach der Ätherausschüttelung verbleibende wässerige Lösung wurde mit Schwefelsäure angesäuert, wobei sich eine tiefdunkelbraune, zähflüssige Schmiere abschied, deren Weiteruntersuchung erfolglos war.

Mit dem ätherunlöslichen Rückstand (B. 2. β) stellten wir Lösungsversuche an, die zeigten, daß dieser in Chloroform wenig, in Alkohol, Methylalkohol, Essigäther, Lauge und Sodalösung nur teilweise und in Aceton teilweise mit einer Abscheidung nach dem Erkalten löslich war.

Man erhitzte daher den ganzen Rückstand (B. 2. β) auf dem Wasserbad am Rückflußkühler eine Stunde lang mit Aceton. Die Acetonlösung (B. 2. β L.) wurde von dem geringen acetonunlöslichen Rückstand abfiltriert, der nicht weiter berücksichtigt wurde. Die Acetonlösung wurde nach vergeblichen Abscheidungsversuchen im Vacuum zur Trockene eingeengt. Es verblieben 34 g eines dunkelbraunen Extraktes, das in Wasser und Äther unlöslich, in Essigäther, Chloroform, Sodalösung und Lauge unvollständig, in Alkohol und warmem Methylalkohol fast völlig löslich war.

Eine Aufarbeitung der Substanz suchten wir auch durch folgenden Versuch zu erreichen:

10 g des dunkelbraunen Extraktes wurden mit 200 ccm 5%iger Kalilauge und 200 ccm Essigäther im Scheidetrichter ausgiebig geschüttelt. Es resultierten dabei drei Fraktionen:

1. Essigätherlösung: Diese wurde mit Wasser gewaschen, mit entwässertem Natriumsulfat getrocknet und hierauf vom Lösungsmittel befreit. Als Rückstand verblieben 0,8 g = 8%.

2. Laugelösung: Sie wurde mit Salzsäure angesäuert, wobei nur wenig Niederschlag entstand.

3. Ein in Lauge und Essigäther unlöslicher Anteil, welcher eine fast schwarze, schmierige Masse bildete, die in Äther, Essigäther, Aceton und Chloroform unlöslich, in Sodalösung wenig, in Alkohol und Methylalkohol fast völlig löslich war und nach dem Erkalten eine geringe Ausscheidung erkennen ließ.

Die noch verbleibenden 24 g des Extraktes (B. 2. β L.) wurden auf Grund der Ergebnisse der Lösungsversuche eine halbe Stunde lang am Rückflußkühler auf dem Wasserbad mit ca. 250 ccm Methylalkohol erhitzt und durch den Heißwassertrichter filtriert. Als Rückstand verblieb ein dunkelgrüner, harziger, glasig spröder Körper, den wir nicht weiter untersuchten. Da sich trotz Einengens und längeren Verweilens im Eisschrank aus der Methylalkohollösung nichts Nennenswertes ausscheiden wollte, wurde die gesamte Lösung zur Trockene eingedampft. Da der verbleibende Rückstand hauptsächlich Chlorophyll enthielt, das diesen tiefdunkelgrün färbte, unterließen wir eine weitere Aufarbeitung.

3. Alkohol-Auszug.

Die an der Luft getrocknete Droge (1300 g) wurde mit 50%igem Alkohol im Perkolator ausgezogen. Zur Erschöpfung waren hiezu 15 kg notwendig. Nach Einengen des Perkolates im Vacuumdestillationsapparat verblieben 100 g eines braunen Extraktes.

Nachdem es sich bei der vorhergehenden Aufarbeitung der Droge (Perkolation A) gezeigt hatte, daß dieselbe offenbar ein Saponin enthält, so sollte diesem im vorliegenden alkoholischen Extrakt besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden, da man annehmen konnte, daß es sich zur Hauptsache in diesem Auszug befand. Nachdem man bei der früheren Gewinnung des Saponins (auf Seite 41) verhältnismäßig gute Resultate durch Fällung einer methylalkoholischen Lösung mit Äther erzielt hatte, wurde dieser Weg auch hier eingeschlagen.

Man erhitzte daher das Extrakt fünfmal mit je 300 ccm Methylalkohol eine halbe Stunde am Rückflußkühler und filtrierte die Lösungen jeweils heiß. Der methylalkoholunlösliche Rückstand wurde zur Weiterverarbeitung zum wässerigen Auszug der Perkolation B gegeben.

Die vereinigten Filtrate wurden, ungeachtet der bei der Abkühlung entstandenen Fällung, in fünf Portionen von je 600 ccm Äther in dünnem Strahl eingegossen, wobei Ausflockung entstand. Die Ausfällungen ließ man über Nacht im Eisschrank absitzen und filtrierte am nächsten Tag die Niederschläge ab. Ein mehrmaliges Lösen in Methylalkohol und Umfällen mit Äther bezweckte die Vorreinigung des Rohsaponins, das in bekannter Weise mit Hilfe der Schwefelsäurereaktion, des Schaumvermögens der wässerigen Lösung, sowie der Haemolyse als solches identifiziert wurde; im übrigen sei auf den Abschnitt: Das Saponin aus Baccharis genistelloides (auf Seite 55) hingewiesen.

4. Wasser-Auszug.

Die an der Luft getrocknete Droge wurde im Perkolator mit 10 kg destilliertem Wasser ausgezogen. In dieser wässerigen Lösung wurde noch eine Reihe unaufgearbeiteter Extraktrückstände aus vorhergegangenen Bearbeitungen gelöst, wobei es sich durchwegs um wasserlösliche und methylalkoholunlösliche Anteile aus der Methylalkoholextraktion A, der Spiritusextraktion A, der 50 %igen Spiritusextraktion B und andere kleinere Rückstände handelte.

Die im Vacuum auf ein kleineres Volumen eingeengte und filtrierte Lösung wurde nach der Bleimethode aufgearbeitet.

Die Bleimethode.

Die ca. 5 kg betragende, klare wässerige Flüssigkeit wurde am Rührwerk mit gesättigter Bleiacetatlösung im geringen Überschuß unter tropfenweiser Zugabe der Bleisalzlösung versetzt. Der hellgrüne Niederschlag wurde filtriert und darauf peinlichst mit Wasser ausgewaschen.

Das Filtrat, welches eine hellgelbe Flüssigkeit darstellte und durch Ergänzung mit den vereinigten Waschwässern schließlich 22 kg ausmachte, wurde im Vacuum auf ca. 3 kg eingeengt. Die weitere Aufarbeitung dieser Lösung findet sich im Abschnitt: Bleiessigfällung (auf Seite 47).

Der hellgrüne Niederschlag wurde mit verdünntem Alkohol aufgeschwemmt und am Rührwerk mit Schwefelwasserstoff entbleit. Die Einleitung des Gases erfolgte solange, bis eine filtrierte Probe mit Schwefelwasserstoff keine Fällung mehr ergab.

Hierauf wurde die gesamte Menge abgenutscht. Um die letzten Reste aus dem Sulfidniederschlag herauszuholen, wurde dieser mit Methylalkohol am Rückflußkühler solange erhitzt, bis die Lösung farblos blieb. Die Methylalkoholauszüge wurden mit dem Gesamtfiltrat vereinigt. Die Weiterverarbeitung der gesamten Filtrate siehe den Abschnitt: Bleiacetatfällung (Pb. A.) auf Seite 48.

Die Bleiessigfällung.

Die auf ca. 3 kg eingeengte Flüssigkeit (Pb. E.) zeigte eine Trübung, welche durch Filtration abgetrennt wurde. Da dieser Rückstand vermutlich identisch mit dem hellgrünen Niederschlag der Bleiacetatfällung (auf Seite 46) war, wurde er mit diesem weiter verarbeitet. Das klare Filtrat wurde nun mit einer vorher ausprobierten Menge Bleiessig (entsprechend $^1/_6$ des Gesamtvolumens = 500 g) unter Umrühren in dünnem Strahl versetzt. Der entstandene Niederschlag (Pb. E. I.) wurde abfiltriert, mehrmals mit Wasser ausgewaschen und die Waschwässer mit dem ursprünglichen Filtrat (Pb. E. II.) vereinigt.

In das Filtrat (Pb. E. II.) leitete man am Rührwerk Schwefelwasserstoff bis zur völligen Entbleiung ein und nutschte hierauf ab. Um die letzten Reste aus dem Sulfidniederschlag herauszuholen, kochte man diesen mehrmals mit Alkohol am Rückflußkühler solange aus, bis der Alkohol farblos blieb. Die vereinigten Filtrate engte man im Vacuum ein, wobei ein sirupartiger Rückstand von unangenehmem Geruch zurückblieb. Nach wochenlangem Stehen schieden sich aus dem Sirup einige große, balkenförmige Kristalle aus, die in Äther und Aceton unlöslich, in Alkohol, Wasser, Essigäther und Methylalkohol leicht löslich waren. Sie wurden von der Mutterlauge abfiltriert. Man versuchte sie aus verdünntem Aceton und verdünntem Methylalkohol umzukristallisieren, was jedoch trotz aller Mühe, die wir uns damit gaben, nicht mehr gelingen wollte.

Der Niederschlag (Pb. E. I.) wurde in verdünntem, 40%igem Alkohol suspendiert und am Rührwerk mit Schwefelwasserstoff solange entbleit, bis eine herausgenommene filtrierte Probe keinen Niederschlag mit H_2S mehr ergab. Hierauf wurde das Ganze abgenutscht und der Sulfidniederschlag mit Alkohol am Rückflußkühler ausgekocht, um die absorbierte Substanz herauszuholen. Die vereinigten Filtrate dampfte man im Vacuum zur Trockene ein, wobei 12 g Extrakt erhalten wurden. Dasselbe war in 90%igem Alkohol teilweise, in 50%igem Alkohol, Methylalkohol

und Wasser völlig und in Aceton gar nicht löslich. Die wässerige Lösung zeigte außerdem großes Schaumvermögen.

Vorprobe.

Quantitativer Ausschüttelungsversuch mit Essigäther aus der wässerigen Lösung:

0,5 g des aus dem Bleiessigniederschlag gewonnenen Extraktes wurden in 15 ccm Wasser gelöst. Die durch Filtrieren geklärte Lösung wurde 5- bis 6mal mit Essigäther ausgeschüttelt. Der Rückstand der Essigätherlösung betrug nach dem Eindampfen 0,1 g. Die wässerige Lösung dieser Substanz schäumte nicht mehr, während der in der wässerigen Lösung verbliebene, beim Ausschütteln nicht in den Essigäther übergegangene Anteil nach wie vor einen starken und anhaltenden Schaum beim Schütteln ergab.

Auf Grund dieses Vorversuches erfolgte die Aufarbeitung des gesamten Bleiessigniederschlages nach der im Vorhergehenden beschriebenen Arbeitsmethode, da diese zweifellos eine Vorreinigung des zu erwartenden Saponins darstellte. (Vergleiche den Abschnitt: Reinigung des Saponins, Seite 55).

Der gesamte, ca. 12 g betragende exsiccatortrockene Rückstand wurde in Wasser heiß gelöst und vom Unlöslichen abfiltriert, das ununtersucht blieb. Die klare wässerige Lösung wurde dreimal mit Essigäther ausgeschüttelt. Die Essigätherlösung ließ man langsam im Vacuumexsiccator verdunsten, wobei nur eine geringe Abscheidung erfolgte. Die Weiteraufarbeitung dieses Rückstandes mußte infolge Substanzmangels unterbleiben. Die mit Essigäther ausgeschüttelte wässerige Lösung wurde im Vacuum eingeengt. Es verblieben 2 g Rohsaponin, bezüglich dessen weiterer Verarbeitung auf den Abschnitt: Das Saponin aus Baccharis genistelloides, Seite 55, verwiesen sei.

Die Bleiacetatfällung.

Die vereinigten Filtrate (auf Seite 46) wurden im Vacuum zur Trockene eingedampft, mit Methylalkohol aufgenommen und in reichliche Mengen Äther gegossen. Es entstand eine Fällung, die sich jedoch bald als Sediment absetzte und am Flaschengrund haften blieb. Auf diese Weise erhielt man eine Ätherfällung (Pb. A. I.) und ein Äther-Methylalkohol-Gemisch (Pb. A. II.).

Ätherfällung (Pb. A. I).

Diese wurde in Methylalkohol gelöst und zur Trockene im Vacuum eingedampft. Es verblieben 25 g eines braunen Extraktes. Die damit angestellten Lösungsversuche ergaben, daß dieses in Essigäther und Chloroform gar nicht, in Äther wenig, in 90%igem Alkohol und Aceton teilweise und in 50%igem Alkohol völlig löslich war.

Auf Grund der Ergebnisse im Lösungsversuch wurden die gesamten 25 g Extrakt am Rückflußkühler mehrmals mit Aceton ausgekocht und filtriert. Beim langsamen Einengen des Filtrates (Pb. A. I. F.) im Vacuumexsiccator schieden sich einige wenige Kristalle aus, die unter dem Mikroskop betrachtet die verzweigte Form eines Tannenreises zeigten. Mit dem übrigen Rückstand wurden Gerbstoffreaktionen durchgeführt:

Eisenchlorid gab eine grüne Färbung der Lösung,

Kaliumdichromat erzeugte eine gelbe Fällung.

Lösungsversuche hatten gezeigt, daß der Rückstand in Äther und Chloroform gar nicht, in Wasser unvollständig, in Essigäther wenig, dagegen in 50%igem Alkohol, Methylalkohol, Sodalösung und Lauge völlig, in 90%igem Alkohol nur teilweise löslich war. Die Methylalkohollösung des Extraktes gab, in Äther gegossen, eine Ausfällung. Infolgedessen wurde das gesamte Extrakt in Methylalkohol aufgenommen und filtriert. Es blieben Kristalle zurück, die in Alkohol, Methylalkohol, Aceton, Essigäther und Wasser unlöslich waren und in ihrem Aussehen den auf Seite 23 beschriebenen Doppelrhomboedern glichen. Eine nähere Identifizierung war wegen der geringen Menge der Substanz nicht durchführbar.

Die Methylalkohollösung wurde in reichliche Mengen Äther eingegossen und von der erfolgten Abscheidung abfiltriert. Die Abscheidung wurde sofort in Methylalkohol aufgenommen, um ein Zerlaufen an der Luft zu vermeiden, und aus dieser Lösung im Vacuum zur Trockene eingedampft. Es verblieben 3,5 g eines dunkelbraunen Extraktes, das in Wasser fast unlöslich war und auch nicht schäumte. Dieses sowohl wie das Filtrat vernachlässigten wir deshalb.

Das Äther-Methylalkohol-Gemisch (Pb. A. II.) wurde im Vacuum zur Trockene eingedampft und ergab eine Ausbeute von 27,5 g. Damit angestellte Lösungsversuche ergaben, daß es in

Äther kaum, in Wasser und Essigäther wenig, in 90%igem Alkohol und in 50%igem Alkohol völlig und in heißem Aceton völlig, mit einer Abscheidung nach dem Erkalten, löslich war. Diese Lösungsversuche zeigten eine außerordentliche Ähnlichkeit mit denjenigen der Ätherfällung Pb. A. I., so daß wir uns entschlossen, die Abtrennung Pb. A. II. mit dem Teil Pb. A. I. zu verarbeiten.

Der acetonunlösliche Rückstand Pb. A. I. R. der Ätherfällung wurde in Methylalkohol aufgenommen und filtriert: Der methylalkoholunlösliche Anteil Pb. A. I. R. 1. erwies sich zum größten Teil als wasserlöslich. Die wässerige Lösung schäumte stark. Wir behandelten sie daher nach dem unter Reinigung der Saponine erwähnten Verfahren durch Ausschütteln mit Essigäther. Die verbleibende wässerige Lösung wurde im Vacuum eingedampft und lieferte 15 g eines schwarzbraunen Extraktes, das in Äther gar nicht, in Essigäther und Wasser nur mehr teilweise, in Aceton fast völlig löslich war. Aus der Essigätherlösung schieden sich beim langsamen Verdunsten wieder die unter Pb. A. I. F. erwähnten Kristalle aus, die unter dem Mikroskop betrachtet die verzweigte Form eines Tannenreises hatten. Nach mehrmaliger Umkristallisation aus Alkohol hatten sie einen Schmelzpunkt von 114°. Zu einer weiteren Identifizierung reichte die Substanz nicht aus.

Der methylalkohollösliche Anteil Pb. A. I. R. 2. wurde im Vacuum zur Trockene eingeengt. Es verblieben 19 g eines braunen Extraktes, das nur teilweise in Wasser löslich war. Es wurde daher dreimal mit Wasser ausgekocht und filtriert. Als wasserunlöslicher Teil verblieb eine in der Hitze knetbare, zähe, fließende Masse, die beim Erkalten völlig erstarrte. Sie gab die Gerbstoffreaktionen:

Eisenchlorid gab eine Grünfärbung,

Kaliumdichromat erzeugte eine braune Fällung.

Sie wurde nicht weiteruntersucht. Da die wässerige Lösung stark schäumte, wurde nach schon erwähntem Verfahren mit Essigäther ausgeschüttelt. Aus der Essigätherlösung schieden sich beim langsamen Eindunsten rautenförmige Kristalle aus, die nach mehrmaligem Umkristallisieren mit Methylalkohol einen Schmelzpunkt von 117° aufwiesen. Auch hier war leider die Substanzmenge so gering, daß weitere Untersuchungen damit nicht ausgeführt werden konnten. Die wässerige Lösung lieferte

nach dem Eindampfen im Vacuum 3 g eines braunen Extraktes, das in wässeriger Lösung stark schäumte und das, wie auf Seite 46 geschildert, auf Saponin weiterverarbeitet wurde.

Perkolation C.

Der Rest der Droge*) wurde in diesem Arbeitsgang ohne vorherige Perkolation mit Petroläther, zunächst mit Weingeist, dann mit Wasser erschöpft.

1. Spiritus-Auszug.

Aus einem kg Droge erhielt man durch Perkolation mit 7 kg 96 %igem Alkohol 83 g Trockenextrakt, entsprechend einer Ausbeute von 8,3 %. Der scheinbare Widerspruch mit dem bei der Extraktbestimmung (auf Seite 19) dargelegten Ergebnis ist auf die unterschiedliche Extraktionsmethode zurückzuführen. In diesem Falle perkolierte man bei gewöhnlicher Temperatur, wogegen bei den Extraktbestimmungen heiß extrahiert wurde.

Lösungsversuche mit diesem Spiritusextrakt ergaben, daß es in Äther und Sodalösung wenig, in 80 %igem Alkohol und Wasser unvollkommen, in Methylalkohol und Essigäther fast vollkommen, in heißem Aceton und in Lauge teilweise löslich war. Auf Grund der Ergebnisse wurde das Extrakt fein gepulvert und in einem Rundkolben mehrmals eine halbe Stunde lang auf dem Wasserbad am Rückflußkühler mit wasserfreiem Aceton ausgezogen.

Aus den vereinigten Acetonlösungen schied sich beim Erkalten ein hellbrauner, flockiger Niederschlag aus (C. I. U.); von diesem wurde abfiltriert. Das Filtrat hinterließ nach dem Eindampfen im Vacuum 57 g eines dunkelgrünen Extraktes. Dasselbe verhielt sich bei Versuchen, etwas daraus zu isolieren, in jeder Beziehung gleich wie die Acetonextrakte der Perkolation A. u. B., sodaß auf eine weitere Schilderung verzichtet werden kann.

Der acetonunlösliche Rückstand des Spiritusextraktes (C. I. U.) wog nach Trocknen im Exsiccator 21 g. Damit angestellte Lösungsversuche zeigten, daß es in Sodalösung und Lauge wenig, in 90 %igem, 50 %igem Alkohol, Methylalkohol, Essigäther und Wasser teilweise löslich war. Demzufolge wurde das Extrakt

*) Weiteres Material aus Südamerika zu erhalten, gelang trotz vielfacher Bemühungen nicht.

mit heißem Methylalkohol behandelt und heiß filtriert. Der in Methylalkohol unlösliche Rückstand bildete eine zähe, knetbare bräunliche Masse, die nach dem Trocknen im Exsiccator 9 g wog und deren weitere Bearbeitung keine Resultate ergab.

Die Methylalkohollösung des acetonunlöslichen Rückstandes wurde mit Wasser versetzt, worauf eine starke Ausflockung erfolgte (C. I. U. r.). Nach Abkühlen im Eisschrank wurde dieser hierauf vom wasserlöslichen Teil (C. I. U. f.) durch Filtration getrennt.

Der wasserunlösliche Rückstand (C. I. U. r.) wog nach Trocknen im Exsiccator 5 g. Es wurden damit Lösungsversuche angestellt, die ergaben, daß dieser in Äther gar nicht, in Essigäther wenig, in Lauge und Sodalösung unvollkommen, in Alkohol und Aceton teilweise und in Methylalkohol fast völlig löslich war. Aus Methylalkohol erfolgte nach Abkühlung eine Abscheidung. Ein Versuch mit Methanol zu einer erfolgversprechenden Isolierung eines reinen Körpers zu kommen, scheiterte an der geringen Ausbeute.

Das wässerige Filtrat des methylalkohollöslichen Teiles (C. I. U. f.) wurde im Vacuum eingeengt und im Exsiccator getrocknet. Es bildete einen hellbraunen, leicht pulverisierbaren Rückstand, welcher stark bitter schmeckte und bei Einatmen des Staubes Kratzen im Halse verursachte. Die Ausbeute betrug 14 g.

Die Gesamtmenge wurde unter vorsichtigem Erwärmen in 300 ccm Methylalkohol gelöst, in den Eisschrank verbracht und hierauf filtriert. Auf dem Filter konnte man würfelförmige Kristalle feststellen, die sich als Kaliumchlorid identifizieren ließen. Das Filtrat wurde in dünnem Strahl und unter fortgesetztem Umschütteln des Kolbens in 1000 ccm Äther eingegossen. Es erfolgte eine gelbe Ausflockung, welche man über Nacht im Eisschrank absitzen ließ und hierauf filtrierte. Der Filtrationsrückstand war stark hygroskopisch, weshalb man ihn sofort wieder in Methylalkohol aufnahm und aus dieser Lösung im Vacuum scharf eintrocknete. Man erhielt 2,3 g eines hellbraunen Rückstandes.

Die Substanz zeigte folgende Reaktionen und Eigenschaften:

1. Auf konz. Schwefelsäure gestreut, färbte sie diese rot.
2. Die wässerige Lösung gab beim Schütteln einen starken, bleibenden Schaum.

3. Die wässerige Lösung besaß haemolytische Eigenschaften.

Dieses Verhalten der Substanz deutete darauf hin, daß es sich um ein Saponin handelte, das im Abschnitt: Das Saponin aus Baccharis genistelloides (auf Seite 55) gesondert besprochen wird.

2. Wasser-Auszug.

Die Extraktion mit Wasser erfolgte im Anschluß an die erschöpfende Perkolation mit 96 %igem Alkohol durch Perkolation mit destilliertem Wasser. Aus 1 kg wurden 60 g eines dunkelbraunes Extraktes gewonnen, entsprechend 6 % Ausbeute. Die Lösungsversuche ergaben, daß dieses in 80 %igem Alkohol wenig, in 40 %igem und 20 %igem Alkohol, Aceton + Wasser (1 : 1), 50 %igem Methylalkohol unter Zurücklassen eines hellen Rückstandes fast völlig, in Sodalösung und Lauge völlig löslich war.

Vorversuche:

1. Eine 50 %ige wässerige Extraktlösung (5 ccm) wurde mit 10 ccm Äthylalkohol überschichtet und in den Eisschrank gebracht. Nach wochenlangem Stehen hatte sich eine nur wenig Erfolg versprechende Abscheidung an der Berührungsfläche beider Schichten gebildet, weshalb von dieser Methode Abstand genommen wurde.

2. 5 ccm einer 50 %igen wässerigen Extraktlösung wurden mit 5 ccm Essigäther versetzt, einmal kräftig durchgeschüttelt und hierauf in den Eisschrank verbracht. Auch dieser Versuch verlief mit einem unbefriedigenden Resultat.

Im Hinblick auf die möglichst quantitative Erfassung des in früheren Versuchen gefundenen Saponins entschlossen wir uns, auch dieses wässerige Extrakt (C. II.) auf Saponin zu verarbeiten.

Die gesamte Extraktmenge (= 60 g) wurde dreimal mit je 250 ccm Methylalkohol am Rückflußkühler auf dem Wasserbad erhitzt und filtriert. Der Rückstand C. II. r. gelangte zur Weiterverarbeitung zum wässerigen Auszug der Perkolatur B.

Das methylalkohollösliche Filtrat (C. II. f.) wurde in ungefähr drei gleiche Portionen aufgeteilt und jede in ca. 500 ccm Äther in dünnem Strahl und unter fortwährendem Umschwenken des Kolbens eingegossen. Es erfolgte eine gelbbraune Ausflockung,

welche man über Nacht im Eisschrank absitzen ließ. Hierauf wurde rasch abgenutscht und zwar in der Weise, daß durch fortgesetztes Nachgießen ein Eintrocknen der Ausflockung auf dem Filter vermieden wurde, da die stark hygroskopische Masse an der Luft rasch zerlief. Das noch feuchte Filter wurde augenblicklich mit Methylalkohol übergossen, worin sich der Niederschlag rasch bis auf einen geringen Rückstand löste. Das Umfällen mit Methylalkohol wurde noch dreimal wiederholt zwecks Vorreinigung des Rohsaponins. Schließlich trocknete man das Rohsaponin aus der Methylalkohollösung im Vacuum ein. Die Ausbeute betrug 5,5 g.

Auch diese Substanz zeigte haemolytische Eigenschaften und starkes Schäumen der wässerigen Lösung.

Über Reinigung und Weiterverarbeitung dieses Rohsaponins siehe das Folgende.

Das Saponin aus Baccharis genistelloides.

In den vorhergehenden Ausführungen ist verschiedentlich von einem Stoff die Rede gewesen, der nach seinem Verhalten gegenüber Schwefelsäure und beim Haemolyseversuch, sowie beim Schütteln der wässerigen Lösung als Saponin anzusprechen war.

Da es uns leider nicht möglich war, noch mehr Droge zu erhalten, um direkt aus ihr größere Mengen von Saponin darzustellen, waren wir für die Untersuchung desselben auf die bei den einzelnen Extrakten erhaltenen, leider sehr geringen Saponinfraktionen angewiesen. Man darf es wohl als wahrscheinlich bezeichnen, daß die Gewinnung des Rohsaponins dadurch bedeutend vereinfacht werden könnte, daß man die Droge mit Methylalkohol auszieht und die konz. Methylalkohollösung mit Äther fällt. Leider war es uns eben infolge des erwähnten Drogenmangels nicht möglich, dies nachzuprüfen, und wir mußten uns darauf beschränken, das zur Verfügung stehende Rohsaponin weiter zu reinigen und die zur Identifizierung notwendigen Versuche mit diesem auszuführen. Bedauerlicherweise sind bei den Reinigungsversuchen sowie bei den Haemolyseversuchen erhebliche Materialverluste nicht zu vermeiden gewesen.

Schließlich blieb für die Hydrolyse des gereinigten Saponins nur eine so kleine Menge übrig, daß die Spaltungsversuche nicht zu einem befriedigenden Abschluß gebracht werden konnten. Im Nachfolgenden sollen immerhin die Untersuchungen, die mit dem Saponin durchgeführt wurden, geschildert werden.

Reinigung des Rohsaponins.

Alle im Laufe des Untersuchungsganges gewonnenen Substanzen mit Saponineigenschaften waren mehr oder weniger braun gefärbt. Es gelang uns wohl, Rohsaponine zu gewinnen,

die ein helles Gelb aufwiesen, jedoch bedeutete diese Hellfärbung absolut keine Gewähr für deren größere Reinheit gegenüber den dunkleren Präparaten. So zeigte uns gerade die mit einem solchen hellgelben Rohsaponin durchgeführte Aschebestimmung das wenig erfreuliche Resultat von 20% Asche.

Um eine weitere Untersuchung mit unserem Saponin durchzuführen, mußten wir zu einer Reinigung desselben schreiten. In der Literatur finden sich zahlreiche Methoden dafür. So gibt Rosenthaler in seinen „Grundzügen der chemischen Pflanzenbestimmung" eine ganze Reihe von Verfahren an. Er lehnt sich dabei an Arbeiten von Kofler, Dafert, Pfau, Merck u. a. an, die auch wir in ihren Originalen zu Rate zogen. Aus allen diesen Arbeiten geht mehr oder weniger deutlich hervor, daß diese Verfahren nicht zum gewünschten oder erwarteten Ziele führen. Sei es nun, daß sie keine genügende Befreiung von den Ballaststoffen herbeiführen, oder daß sie die quantitative Ausbeute stark vermindern oder, was das Schlimmste ist, die Saponine chemisch verändern, wobei diese Umwandlungen noch nicht erklärt sind. Kurz, aus allen diesen Arbeiten ist zu ersehen, daß den genannten Reinigungsverfahren große Mängel anhaften. Trotzdem haben wir in Vorversuchen mit kleinen Mengen eine ganze Reihe von ihnen ausprobiert, die wir im Folgenden anführen möchten:

I. Fällungsmethoden.

A. Das Saponin wurde in Methylalkohol gelöst und in Äther ausgefällt. Dieses, dem eigentlichen Darstellungsverfahren vollkommen entsprechende Verfahren wurde mehrmals hintereinander wiederholt. Es hatte den Nachteil, daß sich immer weniger Rohsaponin in Methylalkohol löste, je öfter es aus Äther umgefällt wurde. Infolgedessen war es unökonomisch, ganz abgesehen von der Qualität des schließlich resultierenden Produktes, das kaum eine hellere Farbe aufwies als das Ausgangsmaterial. Die Beobachtung früherer Autoren über Steigerung der Hygroskopität von öfter aus Äther umgefällten Saponinen konnten auch wir bestätigen, jedoch konnte dieser Nachteil leicht umgangen werden, wenn die Ätherfällungen sofort in Methylalkohol aufgenommen und aus dieser Lösung im Vacuum zur Trockene gebracht wurden.

B. Das Saponin wurde aus sehr konzentrierten wässerigen Lösungen mit absolutem Alkohol gefällt. Die Ausbeuten waren dabei so schlecht, daß diese Methode nicht in Frage kam.

II. Dialysierversuch.

Dieser wurde mit dem Haën'schen Filter mit Collodiummembran ausgeführt. Er zeitigte ein sehr schlechtes Ergebnis, da Ballaststoffe und Saponin diffundierten.

III. Magnesia-Methode (nach den Angaben Rosenthalers[1]).

50 ccm einer 10%igen Saponinlösung wurden mit Magnesiumoxyd zu einem Brei angerührt und am Wasserbad zur Trockene eingedampft. Der letzte Rest von Feuchtigkeit wurde im Vacuumtrockenschrank abgesaugt. Hierauf wurde die Masse fein gepulvert, mit 200 ccm Methylalkohol versetzt und am Rückflußkühler eine halbe Stunde lang erhitzt. Die alkoholische Lösung filtrierte man ab und fällte sie mit Äther aus. Das eingedampfte Produkt zeigte keine Saponineigenschaften mehr.

IV. Behandlung mit Tierkohle.

Diese Methode hatte an und für sich keine schlechten Resultate ergeben, wenn nicht die Ausbeute eine völlig ungenügende gewesen wäre, da die Kohle fast alles Saponin zurückhielt.

V. Ausschüttelung der wässerigen Saponinlösung mit Essigäther.

Mit dieser Methode nach Rosenthaler[2]) hatten wir noch den meisten Erfolg. Im Gegensatz jedoch zu den Beobachtungen des Verfassers, ging das Saponin nicht in den Essigäther über, sondern verblieb im wässerigen Anteil. Die aus den alkoholischen Perkolationen stammenden Rohsaponine färbten den Essigäther grün, wogegen die aus Methylalkohol-Extrakten stammenden helleren Rohsaponine diesen nur gelb färbten. Natürlich wurde solange mit erneuten Mengen Essigäther geschüttelt, bis dieser farblos blieb.

---

[1]) Rosenthaler, L., Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung, Springer, Berlin 1928, III. Auflage.

[2]) Rosenthaler, L, Über das Saponin in Bellis perennis, Pharm. Zentralhalle 72/633/1931.

VI. Fällung mit Cholesterin.

Die erstmals von Windaus[3]) einwandfrei erwiesene Tatsache, daß Saponine mit Cholesterin und anderen höheren Alkoholen schwerlösliche Additionsverbindungen eingehen, veranlaßte uns, auch nach dieser Richtung hin ein Reinigungsverfahren zu versuchen. Doch auch diese Versuche, die wir nach den Angaben von Windaus mit Cholesterin durchführten, verliefen ergebnislos.

Da keines der erwähnten Reinigungsverfahren uns zum gewünschten Ergebnis verhalf und in der Literatur die besten Urteile über die Elektrodialyse angegeben sind[4]), so wählten wir zur Reinigung unserer Rohsaponine die Elektrodialyse.

Die Elektrodialyse.

Die im Verlaufe unserer Untersuchungen hergestellten Rohsaponine unterzogen wir der Reinigung mit Hilfe des Elektrodialyseapparates nach Pauli[5]). Dieser besteht aus einer Mittelzelle von ca. 125 ccm und zwei Endzellen mit je ca. 180 ccm Fassungsraum. In diesen Endzellen befinden sich die Elektroden, und zwar bedienten wir uns bei unseren Versuchen einer Silberelektrode und einer Graphitelektrode. Die beiden Endzellen sind durch je eine Dialysierpergamenthaut voneinander getrennt. Wir arbeiteten mit 220 Volt Gleichstrom unter Vorschaltung eines Widerstandes mit zwei Osrambirnen.

Zur Durchführung der Dialyse stellte man, soweit es das Ausgangsmaterial erlaubte, jeweils 5%ige Lösungen unserer Rohsaponine verschiedener Provenienz her, filtrierte sie in die Mittelzelle und dialysierte mehrere Stunden. Meist schied sich in der ersten Stunde schon in der Mittelzelle ein hellgelber Niederschlag aus, während die Waschflüssigkeit in den beiden Endzellen anfangs nicht gefärbt war. Erst nach Abfiltrieren des

[3]) Windaus, A, Über die Saponine und ihre Beziehungen zu anderen Pflanzenstoffen, Nachr. d. G. d. Wiss. Göttingen, math.-phys. Klasse, Juli 1925.

[4]) Pauli, Wo., Biochem. Zeitschr. 152/355/1924.
Adolf u. Pauli, Biochem. Zeitschr. 152/360/1924.
Kofler u. Dafert, Ber. d. D. Pharm. Ges. 33/215/1923.
Kofler u. Wolkenberg, Biochem. Zeitschr. 160/398/1925.

[5]) Zu beziehen bei Fritz Köhler, Universitätsmechaniker a. D., Leipzig, Windscheidstraße.

Niederschlages aus der Mittelzelle begann sich die Flüssigkeit in den Endzellen mehr oder weniger stark zu färben. Die Endzellen wurden sehr häufig mit destilliertem Wasser nachgespült. Nach einer Dialyse von 50 Stunden wurde jeweils der Versuch abgebrochen. Die klare, meist bedeutend aufgehellte Lösung des Saponins aus der Mittelzelle wurde hierauf im Vacuum zur Trokkene eingedampft. Man erhielt als durchschnittliche Ausbeute 25 bis 33 % des angewandten Rohsaponins.

Mit dem aus dem Methylalkoholextrakt der Perkolation A (auf Seite 40) stammenden, durch Elektrodialyse gereinigten Saponin führten wir eine

Aschebestimmung

durch: 0,1120 g Saponin wurden in einem Porzellanschälchen vollkommen verascht. Sie ergaben 0,00045 g Asche, entsprechend 0,4017 %.

Im Vergleich zu dem beim Rohsaponin vor der Elektrodialyse gefundenen Aschegehalt, der sich nahe an 20 % bewegte, bedeutete somit der gefundene Wert eine weitgehende Reinigung des Saponins.

Nach durchgeführter Reinigung sämtlicher Saponine verschiedener Provenienz mit Hilfe der Elektrodialyse vereinigten wir alle Dialyseprodukte. Eine Aschebestimmung dieses Saponins ergab:

0,1045 g Saponin = 0,0005 g Asche, entsprechend 0,478 %.

Wir benennen im Folgenden das Saponin aus Baccharis genistelloides Baccharonin.

Haemolyseversuche.

Die Versuche dienten einerseits zur Feststellung des Haemolysevermögens der gefundenen Saponine überhaupt, wie dies insbesondere bei noch nicht dialysierten Produkten der Fall war, anderseits aber — und dies vorzugsweise bei den durch Elektrodialyse gereinigten Saponinen — der Bestimmung des haemolytischen Index. Diese letztere sollte uns auch gleichzeitig zeigen, ob und inwieweit eine Erhöhung der Haemolyse-Wirkung durch die Reinigung mittels Elektrodialyse eingetreten war.

Die Haemolyseversuche wurden in der Weise durchgeführt, daß defibriniertes Hammelblut mit physiologischer Kochsalzlösung (mit m/15 Phosphatpuffergemisch von p_H = 7,4) verdünnt wurde, und zwar zu jedem Versuch eine 1%ige, eine 2,5%ige und eine 5%ige Blutaufschwemmung. Weiterhin wurde für jeden Versuch eine Lösung von 0,1 g des zu untersuchenden Saponins in 10 ccm der wie oben angegebenen physiologischen Kochsalzlösung jeweils frisch bereitet. Mit dieser Lösung wurde in 8 Gläsern eine Verdünnungsreihe der Saponinlösung mit physiologischer Kochsalzlösung in der Weise hergestellt, daß in jedem folgenden Glas die Saponinkonzentration der Hälfte von derjenigen des vorhergehenden Glases entsprach. Nach Fertigstellung der Verdünnungsreihe fügte man in jedes Glas je einen ccm der Blutaufschwemmung. Sofort nach dem Zusammenbringen beider Flüssigkeiten wurden die Gläser umgeschwenkt, ebenso nach Ablauf von 15 Minuten. Die Ablesung erfolgte in den bei jedem Versuch angegebenen Zeiten.

Als Beispiel greifen wir das aus dem Methylalkoholextrakt der Perkolation A (auf Seite 40) stammende Rohsaponin heraus. Es ist dasjenige Rohsaponin, welches trotz seiner hellen Farbe einen Aschegehalt von annähernd 20% hatte. Die nachstehend angeführten Haemolyseversuche I. A. und I. B. zeigen sein haemolytisches Verhalten vor der Reinigung mittels Elektrodialyse:

Haemolyseversuch I. A.

Haemolyse mit konstanter Saponinmenge (Verdünnung 1:100) und wechselnder Blutmenge.

Glas	Saponin-Lösung 1%, ccm	Hammelblut unverdünnt ccm	Physiolog. NaCl-Lösung ccm	Beobachtung nach 15 Minuten	Beobachtung nach 6 Stunden
1	5	5,0	—	—	—
2	5	2,5	2,5	—	+
3	5	1,25	3,75	—	+
4	5	0,6	4,4	—	+
5	5	0,3	4,7	+	+
6	5	0,15	4,85	+	+
7	5	0,075	4,925	+	+

Die Kontrollprobe ohne Saponin verlief negativ.

Haemolyseversuch I. B.

Haemolyse mit wechselnder Saponinmenge und konstanter Blutmenge.

Glas	Hammelblut unverdünnt ccm	Saponin-Lösung 1%, ccm	Physiolog. NaCl-Lösung ccm	Saponin-Verdünnung	Beobachtung nach 15 Min.	Beobachtung nach 6 Std.
1	2	2,0	—	1:200	+	+
2	2	1,0	1,0	1:400	—	—
3	2	0,5	1,5	1:800	—	—
4	2	0,25	1,75	1:1600	—	—

Die Kontrollprobe ohne Saponin verlief negativ.

Die Haemolyseversuche II. A., II. B. und II. C. wurden mit dem gleichen, aus dem Methylalkoholextrakt gewonnenen Saponin (auf Seite 40) durchgeführt, jedoch nach vollständiger Reinigung mittels der Elektrodialyse. Wie auf Seite 59 ausführlich geschildert wurde, betrug nunmehr der Aschegehalt des elektrodialysierten Produktes 0,4017%.

Haemolyseversuch II. A.

Hammelblutverdünnung 1 %.

Glas	Hammelblut-Verdünnung ccm	Saponin-gehalt g	Physiolog. NaCl-Lösung ccm	Saponin-Verdünnung	Haemolyse war vollständig nach
1	1	0,01	1	1 : 200	1 Minute
2	1	0,005	1	1 : 400	2 Minuten
3	1	0,0025	1	1 : 800	5 Minuten
4	1	0,001	1	1 : 2000	10 Minuten
5	1	0,0005	1	1 : 4000	16 Minuten
6	1	0,00025	1	1 : 8000	6 Stunden
7	1	0,0001	1	1 : 20000	—
8	1	—	1	Kontrolle	—

Haemolyseversuch II. B.

Hammelblutverdünnung 2,5 %.

Glas	Hammelblut-Verdünnung ccm	Saponin-Gehalt g	Physiolog. NaCl-Lösung ccm	Saponin-Verdünnung	Haemolyse war vollständig nach
1	1	0,01	1	1 : 200	2 Minuten
2	1	0,005	1	1 : 400	6 Minuten
3	1	0,0025	1	1 : 800	11 Minuten
4	1	0,001	1	1 : 2000	3 Stunden
5	1	0,0005	1	1 : 4000	6 Stunden
6	1	0,00025	1	1 : 8000	partiell nach 12 Std.
7	1	0,0001	1	1 : 20000	—
8	1	—	1	Kontrolle	—

Haemolyseversuch II. C.

Hammelblutverdünnung 5 %.

Glas	Hammelblut-Verdünnung ccm	Saponin-Gehalt g	Physiolog. NaCl-Lösung ccm	Saponin-Verdünnung	Haemolyse war vollständig nach
1	1	0,01	1	1:200	3 Minuten
2	1	0,005	1	1:400	7 Minuten
3	1	0,0025	1	1:800	1 Stunde
4	1	0,001	1	1:2000	6 Stunden
5	1	0,0005	1	1:4000	partiell nach 12 Std.
6	1	0,00025	1	1:8000	—

Die Kontrollprobe verlief negativ.

Die Versuchsprotokolle II. A., II. B. und II. C. zeigen eindeutig eine Steigerung der haemolytischen Wirkung nach durchgeführter Elektrodialyse. Zieht man dabei auch in Betracht, daß in den Versuchen I. A. und I. B. mit unverdünntem Hammelblut, in den Versuchen II. A., II. B. und II. C. mit 5 %igen, 2,5 %igen und 1 %igen Hammelblutverdünnungen gearbeitet wurde, so ist trotzdem starke Zunahme der haemolytischen Wirkung unverkennbar.

Wie auf Seite 59 ausgeführt wurde, hatten wir durch Vereinigung sämtlicher, durch Elektrodialyse gereinigter Saponinfraktionen aus den verschiedenen Extrakten eine Substanz erhalten, die wir Baccharonin nannten. Die folgenden Haemolyseversuche wurden mit diesem „Baccharonin“ ausgeführt.

Haemolyseversuch III. A.

Hammelblutverdünnung 1 %.

Glas	Hammelblut-Verdünnung ccm	Saponin-gehalt g	Physiolog. NaCl-Lösung ccm	Saponin-Verdünnung	Haemolyse war vollständig nach
1	5	0,01	5	1:1000	10 Minuten
2	5	0,005	5	1:2000	25 Minuten
3	5	0,0025	5	1:4000	1 Stunde
4	5	0,001	5	1:10000	partiell nach 6 Std.
5	5	0,0005	5	1:20000	—
6	5	—	5	Kontrolle	—

Haemolyseversuch III. B.

Hammelblutverdünnung 2,5 %.

Glas	Hammelblut-Verdünnung ccm	Saponin-Gehalt g	Physiolog. NaCl-Lösung ccm	Saponin-Verdünnung	Haemolyse war vollständig nach
1	5	0,01	5	1:1000	20 Minuten
2	5	0,005	5	1:2000	45 Minuten
3	5	0,0025	5	1:4000	6 Stunden
4	5	0,01	5	1:10000	—
5	5	—	5	Kontrolle	—

Haemolyseversuch III. C.

Hammelblutverdünnung 5 %.

Glas	Hammelblut-Verdünnung ccm	Saponin-Gehalt g	Physiolog. NaCl-Lösung ccm	Saponin-Verdünnung	Haemolyse war vollständig nach
1	5	0,01	5	1:1000	50 Minuten
2	5	0,005	5	1:2000	6 Stunden
3	5	0,0025	5	1:4000	partiell nach 18 Std.
4	5	0,001	5	1:10000	—
5	5	—	5	Kontrolle	—

Wie aus diesen drei Haemolysenversuchen hervorgeht, tritt Haemolyse ein, bei einem Gehalt von 0,001 bis 0,0025 g Saponin.

Um nun einen haemolytischen Index des Saponins festzulegen, wurde eine neue Versuchsreihe angesetzt, in der in 10 Gläsern der Gehalt an Saponin innerhalb enger Grenzen zwischen 0,00125 und 0,004 lag.

Haemolyseversuch III. D.

Hammelblutverdünnung 1 %.

Glas	Hammelblut-Verdünnung ccm	Saponin-gehalt g	Physiolog. NaCl-Lösung ccm	Saponin-Verdünnung	Haemolyse war vollständig nach
1	5	0,004	5	1:2500	3 Minuten
2	5	0,0033	5	1:3000	7 Minuten
3	5	0,00285	5	1:3500	10 Minuten
4	5	0,0025	5	1:4000	12 Minuten
5	5	0,00222	5	1:4500	15 Minuten
6	5	0,002	5	1:5000	18 Minuten
7	5	0,0018	5	1:5500	45 Minuten
8	5	0,00166	5	1:6000	2 Stunden
9	5	0,0015	5	1:6500	6 Stunden
10	5	0,00142	5	1:7000	partiell nach 18 Std.
11	5	0,00133	5	1:7500	—
12	5	0,00125	5	1:8000	—
13	5	—	5	Kontrolle	—

Aus dem Haemolyseversuch III. D. geht hervor, daß Baccharonin in einer Verdünnung von 1:6500 Hammelblutkörperchen in einer Aufschwemmung von 1 % nach 6 Stunden vollständig zu haemolysieren vermag. Der haemolytische Index beträgt unter den vorstehend beschriebenen Bedingungen also 6500.

Folgende bei sämtlichen Haemolyseversuchen beobachtete Erscheinung soll hier noch erwähnt werden.

Bemerkenswert war die Ausfällung von schmutzig brauner Färbung in den Gläsern mit höchster Saponinkonzentration. Sie war in den mit „C“ bezeichneten Versuchen, also bei 5%iger Blutaufschwemmung in den Gläsern 1 und 2 stark; bei den mit „B“ bezeichneten Versuchen, also bei 2,5%iger Blutaufschwemmung in den Gläsern 1 und 2 deutlich, in Glas 3 schwach, und in den mit „A“ bezeichneten Versuchen in den Gläsern 1 bis 4 deutlich, in 5 nur sehr schwach wahrnehmbar. Diese Erscheinung erfolgte zeitlich getrennt, in den ersten Gläsern der Versuchsreihe rascher als in den letzteren.

Wir stellten uns die Frage nach der Ursache dieser Erscheinung und führten mit Merck'schem Saponin die gleichen Haemolyseversuche unter nämlichen Bedingungen aus, mit dem Erfolg, daß keine derartige Ausflockung entstand. Die Erscheinung kann also nicht darauf zurückzuführen sein, daß infolge zu hoher Saponinkonzentration eine Ausflockung entsteht, da das Handelssaponin in gleich hoher Konzentration dieselbe nicht hervorrief. Wir suchten daher eine Erklärung in den unlöslichen Verbindungen, die zwischen Stearinen und manchen Saponinen entstehen, in der Annahme, daß das Cholesterin des Blutes mit dem Saponin die Fällung hervorrufen könnte. Nach den Versuchen, welche wir bereits auf Seite 58 angeführt haben, kommt diese Erklärung nicht in Frage, da sich dort gezeigt hatte, daß Baccharonin durch Cholesterin nicht fällbar ist. So bleibt also nur die Annahme übrig, daß die Auslösung dieser Erscheinung von einem durch die Elektrodialyse nicht entfernbaren Ballaststoff verursacht wird.

Die beiden letzten Haemolyseversuche IV. A. und IV. B. stellten einen Kontrollversuch mit einem aus der Droge direkt gewonnenen Auszug dar. Dieser wurde auf folgende Art hergestellt: 2 g Droge wurden mit 50 ccm Wasser eine halbe Stunde lang kalt ausgezogen. Dieser wässerige Auszug wurde von der Droge abfiltriert und diese mit weiteren 50 ccm Wasser eine halbe Stunde lang auf dem siedenden Wasserbad infundiert. Der kalte und der heiße Drogenauszug wurde nach Abkühlen vereinigt und auf 100 ccm ergänzt.

Haemolyseversuch IV. A.

Hammelblutverdünnung 1 %.

Glas	Hammelblut-Verdünnung ccm	Drogen-Gehalt g	Physiolog. NaCl-Lösung ccm	Verdünnung des Drogen-auszuges	Haemolyse war vollständig nach
1	1	0,02	1	1:100	10 Minuten
2	1	0,01	1	1:200	25 Minuten
3	1	0,005	1	1:400	partiell nach 12 Std.
4	1	0,0025	1	1:800	—
5	1	—	1	Kontrolle	—

Haemolyseversuch VI. B.

Hammelblutverdünnung 2,5 %.

Glas	Hammelblut-Verdünnung ccm	Drogen-Gehalt g	Physiolog. NaCl-Lösung ccm	Verdünnung des Drogen-auszuges	Haemolyse war vollständig nach
1	1	0,02	1	1:100	10 Minuten
2	1	0,01	1	1:200	25 Minuten
3	1	0,005	1	1:400	—
4	1	0,0025	1	1:800	—
5	1	—	1	Kontrolle	—
6					

Zur Vervollständigung der Wertbestimmung von Baccharonin wurde unter den aus den nachfolgenden Protokollen hervorgehenden Versuchsbedingungen eine Schaumzahlbestimmung durchgeführt.

Schaumzahlbestimmung.

Glas	Saponin-Lösung 1%, ccm	Wasser ccm	Saponingehalt g	Verdünnung	Schaumhöhe cm
1	0,1	9,9	0,001	1 : 10000	—
2	0,2	9,8	0,002	1 : 5000	0,5
3	0,3	9,7	0,003	1 : 3333	1,8
4	0,4	9,6	0,004	1 : 2500	2,0
5	0,5	9,5	0,005	1 : 2000	2,8
6	0,6	9,4	0,006	1 : 1666	3,0
7	0,7	9,3	0,007	1 : 1428	3,8
8	0,8	9,2	0,008	1 : 1250	3,9
9	0,9	9,1	0,009	1 : 1111	4,0

Schaumzahlbestimmung.

Glas	Saponin-Lösung 1%, ccm	Wasser ccm	Saponingehalt g	Verdünnung	Schaumhöhe cm
1	2,0	8,0	0,002	1 : 5000	0,5
2	2,1	7,9	0,0021	1 : 4750	0,6
3	2,2	7,8	0,0022	1 : 4500	0,7
4	2,3	7,7	0,0023	1 : 4250	0,8
5	2,5	7,5	0,0025	1 : 4000	0,9
6	2,6	7,4	0,0026	1 : 3750	**1,0**
7	2,8	7,2	0,0028	1 : 3500	1,7
8	3,0	7,0	0,0030	1 : 3250	1,8
9	3,3	6,7	0,0033	1 : 3000	2,0

Die Schaumzahl beträgt also 3750.

Hydrolyse des Saponins.

Bei der Ausführung der Hydrolyse hielt man sich an die von Winterstein beschriebenen Versuchsanordnungen [1]).

2 g durch Elektrodialyse gereinigtes Saponin wurden in 25 ccm 70%igem Methanol in der Wärme gelöst und nach Zusatz von 2 ccm 50%iger Schwefelsäure am Rückflußkühler gekocht. Nach etwa 20 Minuten begann sich die Lösung zu trüben. Nach 2 stündigem Erhitzen war eine braune Abscheidung entstanden, die abgenutscht wurde. Durch weiteres Einengen der Mutterlauge erfolgte eine weitere Abscheidung, die mit der ersteren vereinigt wurde. Das Prosapogenin wurde, nachdem es mit 70%igem Methanol nachgewaschen worden war, in 50 ccm Aceton gegeben, welchem 5 ccm einer 35%igen Salzsäure zugesetzt waren. Es löste sich darin vollkommen mit brauner Farbe. Nach dreistündigem Kochen wurde die Hydrolyse unterbrochen und die Acetonlösung mit ca. 100 ccm Wasser verdünnt, wobei eine graue Ausfällung erfolgte. Unbeachtet dieser, wurde die Lösung dreimal mit je 50 ccm Äther ausgeschüttelt. Die Ausfällung war in Äther vollkommen löslich, sodaß sich die wässerige Lösung beim Schütteln restlos klärte.

Die Ätherlösung, welche sehr aromatisch roch, wurde mit Wasser nachgewaschen und mit Normal-Natronlauge solange geschüttelt, als diese noch etwas aufnahm. Der ausgeschüttelte Äther wurde abdestilliert. Es hinterblieb ein halbflüssiger, gelber, intensiv riechender Rückstand, in welchem eine kristallinische Ausscheidung zu erkennen war. Diese bestand aus feinen, gelben Nadeln, welche in einem sehr aromatisch riechenden Öl schwammen. Das Gemisch destillierte man mit strömendem Wasserdampf, wobei ein Teil in das Destillat überging. Die wässerige Destillationsflüssigkeit schüttelte man mit Äther aus, trocknete diesen mit Natrium sulfuricum siccum und stellte ihn

[1]) Winterstein, A., und Mitarbeiter, Untersuchungen in der Saponinreihe, Zeitschr. f. Physiolog. Chem. 199/1931.

zum langsamen Verdunsten beiseite. Versuche, den verbleibenden, sehr aromatischen Rückstand mit Hilfe von Petroläther zur kristallinischen Ausscheidung zu bringen, scheiterten. Schließlich mußten wir infolge Substanzmangel diese Versuche aufgeben.

Den mit Wasserdampf nicht flüchtigen Anteil schüttelte man ebenfalls mit Äther über. Nach Trocknen der Ätherlösung wurde dieser eingedampft. Der braune Rückstand ließ sich durch Aufnehmen in absolutem Alkohol in drei Teile aufspalten:

1. Einen in kaltem absoluten Alkohol löslichen Anteil, der braun und amorph war.

2. Einen in heißem absoluten Alkohol löslichen Anteil, der sich beim Erkalten der Lösung als gelber, feinkristallinischer Rückstand erkennen ließ.

3. Einen in heißem absoluten Alkohol unlöslichen Anteil, der in öliger Tröpfchenform am Boden des Gefäßes schwamm.

Die Ausbeute an diesen drei Prosapogeninfraktionen war so gering, daß es nicht gelang, die eine oder andere in analysenreiner Form zu fassen.

Der oben erwähnte, in Natronlauge lösliche Anteil des Aglykons, stellte nach Ansäuern der Lauge, Überschütteln in Äther und Abdampfen der letzteren einen so geringen braunen Rückstand dar, daß er vernachlässigt werden mußte.

Untersuchung auf die bei der Hydrolyse abgespaltenen Zucker.

A. Hydrolysenflüssigkeit I.

Die bei der ersten Phase der Hydrolyse mit 70 %igem Methanol und Schwefelsäure erhaltene Flüssigkeit wurde nach A. W. van der Haar [1]) aufgearbeitet:

Sie wurde mit einem geringen Überschuß von Bariumcarbonat versetzt und im Vacuum eingedampft. Die erhaltene Masse wurde mehrmals mit 90 %igem Alkohol am Rückflußkühler

[1]) van der Haar, A. W., Anleitung zum Nachweis, zur Trennung und zur Bestimmung der Monosaccharide und Aldehydsäuren. Borntraeger, Berlin 1920.

auf dem Wasserbad ausgekocht und jedesmal auf der Nutsche abgesaugt. Die vereinigten Alkoholauszüge engte man im Vacuum zur Sirupkonsistenz ein. Die Bariumcarbonatmasse wurde hierauf zur Prüfung auf Saccharidsäuren mit Wasser ausgezogen, der wässerige Auszug filtriert und vorsichtig unter Vermeidung eines Überschusses mit Schwefelsäure das Barium ausgefällt. Die Lösung wurde vom ausgeschiedenen Bariumsulfat durch Filtration abgetrennt, das Filtrat im Vacuum zur Sirupkonsistenz eingedampft, mit konzentriertem Alkohol ausgezogen, filtriert und wieder zum Sirup eingeengt. Mit dieser Lösung prüfte man mittels Naphthoresorcin auf Anwesenheit der d-Glucuronsäuregruppe nach Tollens-Neuberg-Saneyoshi[1]). Die Reaktion fiel negativ aus.

Mit dem die Saccharide enthaltenden Sirup wurden folgende Reaktionen durchgeführt:

Pentosen:

Phoroglucinreaktion nach Wheeler u. Tollens[2]).

Einigen ccm Sirup wurden soviel 39%ige Salzsäure zugegeben, bis der Salzsäuregehalt ungefähr 18% betrug. Hierauf fügte man etwas Phloroglucin hinzu und erhitzte sodann einige Minuten im siedenden Wasserbad. Es trat eine violett-rote Färbung auf.

Orcin-Reaktion nach Bial[3]).

Die wässerige Lösung wurde mit soviel Orcinreagens versetzt, daß der Säuregehalt ungefähr 18% betrug und hierauf einige Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt. Die Flüssigkeit nahm eine blaugrüne Färbung an. Die Lösung wurde mit furfurolfreiem Amylalkohol geschüttelt, worauf die Farbe in diesen überging.

Reaktion nach Schiff[2]).

Die wässerige Saccharidlösung wurde mit einer Mischung von gleichen Teilen Anilin und Eisessig unter Zusatz eines Tropfens konz. Salzsäure versetzt. Es trat eine rote Färbung ein.

---

[1]) van der Haar, A. W., Anleitung zum Nachweis u. s. w. Seite 55.

[2]) Rosenthaler, L., Der Nachweis organischer Verbindungen. 1923. Seite 187.

[3]) ebenda.

Einige ccm Zuckerlösung wurden mit 12 ½% iger Salzsäure destilliert. Mit diesem Destillat führte man folgende Reaktionen auf Furfurol aus:

1. Eine Mischung gleicher Teile Anilin und Eisessig ergaben mit der vorliegenden Lösung geschüttelt, eine rote Färbung.
2. Beim Schütteln des Salzsäuredestillates mit 5 ccm Sesamöl und 10 ccm rauchender Salzsäure entstand eine violettrote Färbung.

Methylpentosen.

Mit dem, wie oben beschrieben, hergestellten Salzsäuredestillat wurde auch die Acetonreaktion nach Rosenthaler[1]), sowie die Phloroglucinreaktion nach Votocek[1]) ausgeführt, welche beide negativ verliefen.

Hexosen.

Gärversuch.

Mit Hilfe des Einhorn'schen Apparates wurde ein Gärversuch angestellt: Einige ccm der Zuckerlösung wurden mit ein wenig Hefe zu einem homogenen Brei angerührt, in das Gärungskölbchen gegeben und bei 37° in den Brutschrank gestellt. Ein zweiter Versuch wurde in derselben Weise angesetzt, jedoch bei gewöhnlicher Temperatur beiseite gestellt. Ein dritter, blinder Versuch, wurde mit destilliertem Wasser an Stelle der Zuckerlösung angesetzt. Alle drei Proben verliefen negativ.

Ketosen-Reaktion nach Pieraerts[2]).

Sie wurde ausgeführt mit der nach Pieraerts abgeänderten Ost'schen Lösung: 1,5 g Kupfersulfat, 14 g Kaliumcarbonat und 10 g Kaliumbicarbonat auf 100 ccm destilliertes Wasser.

10 ccm dieses Reagens ließ man 1 ½ Stunden bei gewöhnlicher Temperatur auf 1 ccm der Zuckerlösung einwirken. Es erfolgte keine Reaktion.

Pinoff'sche Farbreaktion auf Ketosen[2]).

Auf dem Wasserbad wurden einige ccm Zuckerlösung zur Trockene eingedampft und mit 10 ccm einer frisch bereiteten

[1]) Rosenthaler, L., Der Nachweis organischer Verbindungen. II. Aufl. 1923. Seite 146.

[2]) ebenda Seite 87.

Alkoholschwefelsäure (4:1) sowie mit 0,2 ccm einer 5 %igen alkoholischen α-Naphthollösung versetzt und auf dem Wasserbad einige Zeit erhitzt. Die Reaktion fiel negativ aus.

Farbreaktion nach Seliwanoff-Weehuizen[1]).

Einige ccm Zuckerlösung wurden auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft und der Rückstand mit frisch bereiteter alkoholischer Salzsäure verrührt. Dieser Mischung setzte man einige Resorcinkristalle zu. Die Reaktion fiel negativ aus.

Mit der Reaktion nach Kent-Tollens[2]) auf Schleimsäure hatte man ebenfalls ein negatives Ergebnis zu verzeichnen.

Fischer's Phenylhydrazinprobe.[2])

0,25 g des eingedickten Zuckers wurden mit 0,75 g Natriumacetat in 10 ccm Wasser heiß gelöst und die Lösung hierauf mit 0,5 g Phenylhydrazinum hydrochloricum purissimum versetzt, auf dem Wasserbad eine Stunde lang erhitzt. 10 Minuten nach dem Verweilen im siedenden Wasserbad hatte man das Phenylhydrazin durch vorsichtiges Verrühren mit einem abgeplatteten Glasstab gleichmäßig in der Flüssigkeit verteilt. Nach einstündigem Erhitzen auf dem Wasserbad wurde die Lösung heiß filtriert und nach 24 Stunden die gebildeten Osazonkristalle abgesaugt. Das Osazon, welches unter dem Mikroskop betrachtet feine, büschelförmig angeordnete Nadeln erkennen ließ, wurde mehrmals aus 45 %igem Alkohol umkristallisiert. Danach zeigte es einen konstanten Schmelzpunkt von 170 °. Dieser Schmelzpunkt würde auf ein Fukosephenylhydrazin passen. Man versuchte noch ein p-Bromphenylhydrazon, sowie ein o-Nitrophenylhydrazon darzustellen, was jedoch nicht gelang.

Der negative Ausfall der oben erwähnten Methylpentosenreaktionen schließt Fukose jedoch aus. Die Tatsache, daß ein einheitliches Osazon entsteht, zeigt zusammen mit dem positiven Ausfall der Pentosenreaktionen, daß in der Hydrolysenflüssigkeit I nur eine Pentose vorliegen kann. Substanzmangel verhinderte leider eine nähere Identifizierung derselben.

[1]) Rosenthaler, L., Der Nachweis organischer Verbindungen. 1923. Seite 96.

[2]) van der Haar, A. W., Anleitung zum Nachweis, zur Trennung und Bestimmung der Monosaccharide und Aldehydsäuren. Borntraeger, Berlin 1920. Seite 103.

B. Hydrolysenflüssigkeit II.

Die bei der zweiten Phase der Hydrolyse mit salzsaurem Aceton gewonnene Hydrolysenflüssigkeit wurde mit einem geringen Überschuß von Bariumcarbonat versetzt und im Vacuum zur Trockene eingedampft. Hierauf wurde die grauweiße Masse mehrmals mit 90%igem Alkohol auf dem Wasserbad am Rückflußkühler ausgezogen und filtriert. Das alkoholische Filtrat wurde auf ein kleineres Volumen eingeengt.

Die wässerige Lösung des geringfügigen Rückstandes reagierte nicht mit Phenylhydracin und erwies sich bei der näheren Untersuchung überhaupt als zuckerfrei. Es sind also in der zweiten Phase der Hydrolyse keine Zucker mehr abgespalten worden.

Die mit Alkohol ausgezogene Bariumcarbonatmasse wurde in der gleichen Weise, wie bei der Hydrolysenflüssigkeit I beschrieben, auf

Saccharidsäuren

untersucht: Mit der schließlich erhaltenen wässerigen Lösung wurde die Naphthoresorcinreaktion nach Tollens-Neuberg-Saneyoshi[1]) ausgeführt.

Modifikation I:

5 ccm der Saccharidsäurelösung wurden mit 38%iger Salzsäure versetzt und eine Minute lang mit einem ccm alkoholischer Naphthoresorcinlösung im siedenden Wasserbad gekocht. Nachdem die Flüssigkeit abgekühlt war, schüttelte man sie mit gleichen Raumteilen Äther aus. Die dunkelgrüne Farbe der wässerigen Lösung wurde gelbgrün, während die Ätherschicht sich satt violettblau färbte.

Modifikation II:

Dieser Versuch wurde in gleicher Weise wie der oben beschriebene ausgeführt, nur mit der Abänderung, daß die Flüssigkeit nach dem Erhitzen auf dem Wasserbad auf ca. 50° abgekühlt und hierauf mit Benzol ausgeschüttelt wurde. Die Benzolausschüttelung nahm eine blaue Farbe an.

Der positive Ausfall beider Reaktionen läßt auf das Vorhandensein einer Uronsäure schließen. Doch mußten wir auf eine spezielle Identifizierung, sowie auf die quantitative Bestimmung infolge Substanzmangels verzichten.

[1]) van der Haar, A. W., Anleitung zum Nachweis, zur Trennung und Bestimmung der Monosaccharide und Aldehydsäuren. Borntraeger, Berlin 1920. Seite 55.

Zusammenstellung der Resultate.

1. Es wird über die medizinische Verwendung von Baccharis genistelloides referiert.

2. Die Droge wird pharmakobotanisch durchgearbeitet und die Literaturangaben durch eigene Untersuchungen ergänzt. Insbesondere werden bisher nicht erwähnte Sekretgänge aufgefunden.

3. Die Droge wird pharmakochemisch nach verschiedenen Richtungen untersucht. Extraktgehalt, Asche- und Kieselsäuregehalt werden bestimmt.

Die Untersuchung auf Alkaloide zeigt, daß solche nicht vorhanden sind.

Durch sukzessive Extraktion der Droge mit verschiedenen Lösungsmitteln wird versucht, aus der Droge chemisch einheitliche Stoffe zu isolieren. Da die Droge schon längere Zeit gelagert war und es nicht gelang, neue zu beschaffen, führten diese Untersuchungen mit einer Ausnahme nicht zum Ziel. Es konnten zwar vereinzelt kristallisierte Substanzen gewonnen werden, deren Mengen waren aber für weitere Untersuchungen zu gering.

4. Aus der Droge konnte ein Saponin, das Baccharonin isoliert werden, das durch Elektrodialyse gereinigt wurde. Mit demselben wurden Haemolyseversuche und Schaumzahlbestimmungen durchgeführt. Sein haemolytischer Index wurde zu 6500 bestimmt, seine Schaumzahl zu 3750.

Versuche, das Baccharonin hydrolytisch abzubauen, führten infolge Substanzmangel zu keinem endgültigen Ergebnis. Die Spaltung lieferte in der Saponinfraktion neben amorphen Teilen geringe Mengen eines kristallisierten Körpers; in der Saccharidfraktion konnte eine Pentose und eine Uronsäure nachgewiesen werden.

II.

Über das Gypsophila-Saponin.

I. Theoretischer Teil.

Von den zahlreichen bekannten Saponinen sind bisher nur wenige kristallisiert erhalten worden[1]). Insbesondere die pharmazeutisch und technisch wichtigeren sind bisher nur in amorphen Formen bekannt. Dies erschwert naturgemäß das Studim ihrer Zusammensetzung. Obschon sich Saponine durch Dialyse, insbesondere durch Elektrodialyse, weitgehend von beigemengten Kohlehydraten und Mineralsubstanzen befreien lassen, sind Hydrolysen solcher gereinigter Präparate, die den Zweck verfolgen, aus der Summe der Hydrolysenprodukte auf die Zusammensetzung des Saponins zu schließen, von zweifelhaftem Wert, weil sie immer noch Gemenge nicht dialysabler, partiell abgebauter Zwischenprodukte (Prosapogenine) mit dem Saponin selbst oder wie van der Haar[2]) gezeigt hat, Mischungen von Saponinsäuren mit deren Salzen sein können. Trennungsmethoden sind bis heute für solche Mischungen nicht bekannt.

Es schien daher interessant, den Versuch zu machen, derartige Gemische zu zerlegen mit dem Endziel, einheitliche, wenn möglich kristallisierte Reinsaponine zu gewinnen. Ein Weg dazu schien uns in der fraktionierten Zerlegung durch indifferente Lösungs- bezw. Fällungsmittel unter Zuhilfenahme der polarimetrischen Kontrolle zu liegen.

Die Saponine sind als Glykoside optisch aktiv. Es ist anzunehmen, daß ein Reinsaponin eine andere Drehung aufweist, als seine Prosaponine, und daß sich auch Saponinsäuren darin verschieden erweisen.

Aus diesen Überlegungen ergab sich für unsere Versuche zunächst eine einfache Methodik. Ein geeignetes Saponin sollte, in einem passenden Lösungsmittel gelöst, daraus durch ein neutrales Fällungsmittel niedergeschlagen und die einzelnen Fraktionen polarimetrisch kontrolliert werden. Mit den einzelnen Fraktionen sollten diese Versuche solange wiederholt werden, bis ein Pro-

[1]) Kofler, L., Die Saponine, Wien 1927.

[2]) van der Haar, A. W., Untersuchungen über die Saponine und verwandte Körper. XVII. Über das Gypsophilasaponin und seine Hydrolysespaltlinge (Gypsogenin) und Saccharide. Rec. Trav. Chim. Pays-Bas. 46. 1927.

dukt von konstanter Drehung resultierte, mit welchem dann Kristallisationsversuche auszuführen waren.

Die Untersuchungen haben überraschend schnell zu einem vorläufigen Erfolg geführt, über den wir nachstehend berichten.

Als geeignetstes Material erschien uns nach verschiedenen Vorversuchen (siehe Experimenteller Teil) das Gypsophilasaponin aus der großen weißen Seifenwurzel, das unter dem Namen „Saponinum purum albissimum Merck" in größeren Mengen im Handel zu beziehen ist. Dasselbe ist schon oft, letztmalig eingehend von van der Haar[1]) untersucht worden. (Literaturzusammenstellung über frühere Untersuchungen siehe daselbst.) van der Haar hat festgestellt, daß das dialysierte Gypsophilasaponin ein Gemenge von freien Saponinen mit ihren Calcium- und Magnesiumsalzen ist.

Zu unseren Versuchen wurde ausschließlich das oben genannte Merck'sche Präparat verwendet. Bei der Reinigung durch Elektrodialyse nimmt das ursprünglich neutrale Saponin saure Reaktion an, weshalb die Trennungsversuche direkt mit dem Handelspräparat vorgenommen wurden.

Bei der fraktionierten Fällung der Lösung des Saponins in 80 % Methanol (und Äthanol) mit Äther, erhielt man bei der weiteren Aufarbeitung einzelner Fraktionen sehr bald derbkristallinische Ausscheidungen, die sich bei näherer Untersuchung als Milchzucker erwiesen. Dieser war schätzungsweise zu einem Betrage von 30 bis 40 % dem Saponin beigemischt[2]) und erschwerte naturgemäß die Verarbeitung desselben erheblich. Schließlich gelang es, eine milchzuckerfreie Fraktion zu gewinnen, die unter ganz bestimmten Bedingungen kristallinisch zu erhalten ist. Löst man sie zu 3 % in 85 %igem Äthylalkohol bei genau 76°, filtriert sofort heiß durch einen Heißwassertrichter und stellt das Filtrat in den Eisschrank, so scheidet sich ein reichlicher, weißer Niederschlag aus, der bei Betrachtung unter dem Mikroskop einheitlich aus kleineren und größeren runden Körnchen besteht. Wiederholt man das Umkristallisieren in genau derselben Weise mehrmals, so gehen immer mehr dieser kleinkugeligen Gebilde in feinstrahlige Sternchen über, bis schließlich das ganze Präparat aus solchen besteht (Tafel V u. VI, Seite 81 u. 82). Bei geringfügigen Abweichungen von den genannten

[1]) van der Haar, A. W., Über das Gypsophilasaponin u. s. w. Rec. Trav. Chim. Pays-Bas. 46. 1927.

[2]) Wie uns die Firma Merck mitteilt.

TAFEL V

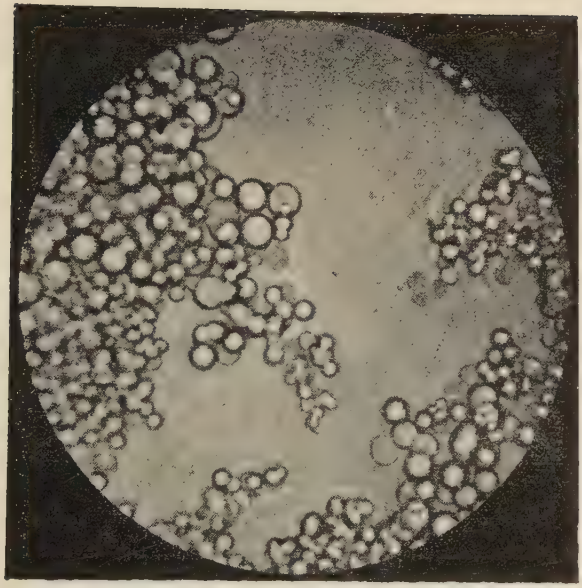


Abb. 10

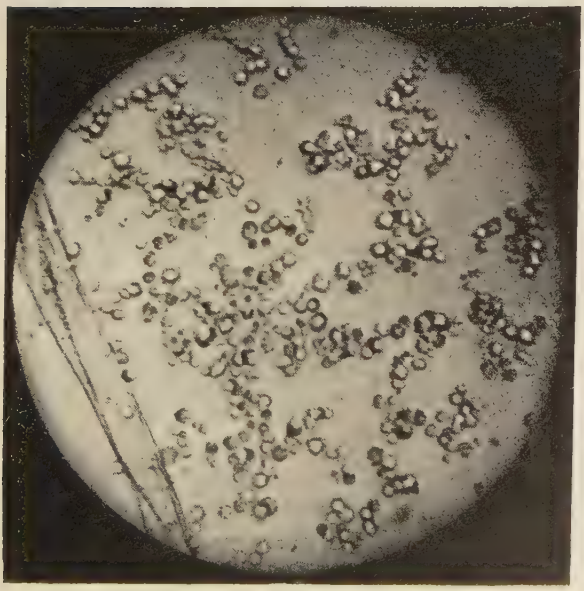


Abb. 11

TAFEL VI

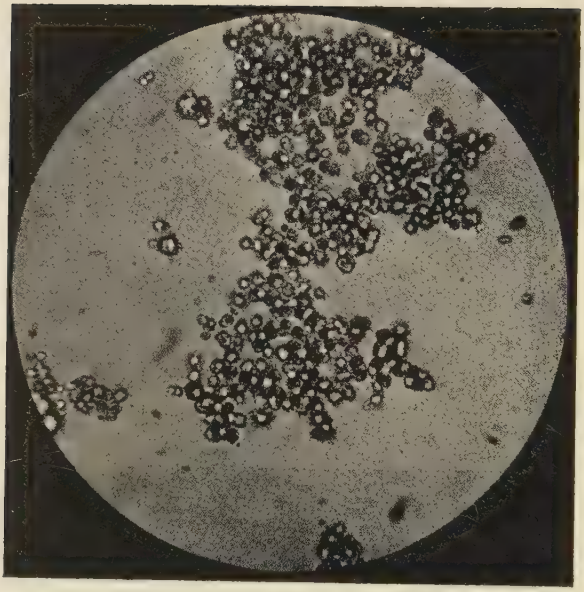


Abb. 12

Versuchsbedingungen erhält man die kristallisierte Substanz plötzlich wieder in der amorphen kugeligen Form.

Das kristallinische Saponin enthält 2,3 % Asche, zeigt eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20}$ = 17,53 und reagiert neutral (p_H = 6,4) gegen Lackmus. Die Asche besteht aus Calcium neben Spuren von Magnesium. Diese Werte bleiben auch bei weiterem Umkristallisieren konstant. Das kristallisierte Saponin schäumt sehr stark in wässeriger Lösung. Sein haemolytischer Index beträgt bei p_H = 6,8: 52000, bei p_H = 7,4: 53300; der des Handelsproduktes: 26000 bezw. 25000. Das Präparat enthält nach einer vorläufigen, orientierenden Elementaranalyse: 50,07 % C, 8,45 % H, 41,47 % O. (Ein Vergleich mit den entsprechenden Zahlen früherer Autoren findet sich in der Zusammenstellung am Schluß des experimentellen Teiles, Seite 100.) Unsere Zahlen möchten wir nur als vorläufige Orientierung betrachten. Nach Verarbeitung neuen Materials werden wir weitere Analysenresultate beibringen. Wir verzichten daher einstweilen auf eine Verwertung dieser Zahlen für die Aufstellung einer Bruttoformel.

Der konstante Aschegehalt deutet darauf hin, daß es sich um das noch mit wenig Magnesiumsalz verunreinigte Calciumsalz des Gypsophilasaponins handelt. Man versucht, die freie Saponinsäure daraus darzustellen, durch Fällen mit Äther aus salzsaurer alkoholischer Lösung und mehrmaliges Umfällen bis zum negativen Ausfall der Chloridreaktion. Das so erhaltene Präparat erweist sich in verschiedener Beziehung als abweichend vom Calciumsalz. Es ist bedeutend leichter löslich in 85 %igem Weingeist als dieses und fällt in 3 %iger Lösung daraus nur in geringer Menge amorph aus. Es reagiert deutlich sauer gegen Lackmus (p_H = 3,15) und zeigt eine andere spezifische Drehung. Da es immer noch 1,15 % Asche enthielt, kann es sich nicht um die reine Saponinsäure handeln. Ein ähnliches, aber bedeutend ascheärmeres Präparat erhält man durch Elektrodialyse des Handelsproduktes, wenn man mit Schwachstrom dialysiert:

Asche: 0,186 %; p_H = 3,3; $[\alpha]_D^{20}$ = + 13,46.

Neutralisiert man diese letztere mit Calciumhydroxyd und dampft die Lösung im Vacuum zur Trockene, so erhält man ein rein weißes Calciumsalz, das nach der erwähnten Methode umkristallisiert, dieselben feinstrahligen Sternchen mit denselben Konstanten ergibt, wie sie das direkt aus dem Handelssaponin isolierte Calciumsalz darstellt.

II. Experimenteller Teil.

1. Auswahl des Saponins.

Aus einer Reihe von Handelssaponinen suchten wir das für unsere Versuche geeignetste auszuwählen. Es standen uns hierzu zur Verfügung:

A. Saponin gereinigt „Kahlbaum“,

aus Quillaya-Rinde hergestellt: Dieses zeigte sauren Charakter, indem es, auf blaues Lackumspapier gebracht, letzteres rot färbte. Basisches Bleiacetat verursachte eine Fällung des sauren Saponins; die filtrierte Lösung ließ auf Zusatz von Bleiessig keine Ausfällung erkennen. Die 1%ige Lösung zeigte ein p_H von 5,4. Das Verhalten einer wässerigen Lösung bei der Elektrodialyse war dadurch gekennzeichnet, daß an der Anode eine starke, weiße Ausscheidung entstand, wogegen die Lösung klar und gelb gefärbt blieb. Bei fortlaufender Elektrodialyse löste sich der Niederschlag wieder. Nach ca. 48 Stunden wurde die Dialyse als beendet angesehen. In der nachfolgenden Zusammenstellung sind die Konstanten des so gereinigten Saponins, sowie des Handelsproduktes einander gegenüber gestellt: *)

Saponin gereinigt „Kahlbaum“

	Handelsprodukt:	Durch Elektrodialyse gereinigtes Saponin:
Reaktion:	sauer: $p_H = 5{,}4$	sauer: $p_H = 4{,}0$
Aschebestimmung:	1,2 %	0,65 %
Spezifische Drehung:	$[\alpha]_D^{20} = -4{,}625$ c = 2,053 % in H_2O; L = 1.	$[\alpha]_D^{20} = -9{,}275$ c = 2,264 % in H_2O; L = 1.

*) Anmerkung:

Sämtliche in vorliegender Arbeit durchgeführten Bestimmungen (Wasserstoffjonenkonzentration, Aschebestimmung und spezifische Drehung) wurden nach sorgfältiger Vertrocknung im Vacuumtrockenapparat nach Abderhalden ausgeführt. Die Bestimmung der Wasserstoffjonenkonzentration erfolgte, wo nicht anders vermerkt, mit Hilfe des Farbencomparators des Seruminstitutes in Bern, in 1%iger wässeriger Lösung.

B. Sapindus-Saponin gereinigt „Merck"
(hergestellt aus Sapindusfrüchten).

Die Reaktion dieses Handelsproduktes war sauer. Mit diesem Präparat wurden einige Lösungsversuche hergestellt, welche ergaben, daß es in 96%igem Alkohol, 70%igem Alkohol und 80%igem Methanol fast völlig, in Methanol teilweise, in Aceton wenig und in 80%igem Aceton teilweise löslich war. Fast alle diese Lösungen ergaben in Äther gegossen anfangs eine gelblichweiße Ausflockung, welche sich aber nach kurzer Zeit als brauner, lackartiger Bodenbelag an der Wandung des Glases absetzte. Nur die 80%ige Acetonlösung des Saponins zeigte keine Ausflockung beim Eingießen in Äther, sondern ergab sofort eine braune Unterschichtung des ätherunlöslichen Anteiles. Auch wiederholtes Umfällen durch erneutes Lösen in 90%igem Alkohol und Eingießen der Lösung in Äther vermochte nicht im Mindesten dieses Verhalten des Saponins zu ändern. Die Aschebestimmung des Handelsproduktes ergab 4,6 % Asche. Die spezifische Drehung bei einer Konzentration von 0,9978 % in Wasser zeigte: $[\alpha]_D^{20} = -12{,}28$ (c = 0,9978; L = 1), $p_H = 4{,}8$ (c = 1 %). Vergleiche auch die Anmerkung auf Seite 84.

Die Reinigung mit Hilfe der Elektrodialyse wurde mit einer 10%igen wässerigen Lösung des Sapindussaponins durchgeführt. Der erste Versuch wurde begonnen mit Schwachstrom, den man durch Vorschaltung eines Widerstandes mit zwei nebeneinandergeschalteten Osrambirnen erreichte. Schon nach einigen Stunden, als die Gasentwicklung stark vermindert war, wurde der Widerstand auf Parallelstrom umgeschaltet. Nach Ablauf von 24 Stunden erfolgte eine Ausflockung in der Mittelzelle (saures Saponin), die durch Filtration abgetrennt wurde. Die Lösung war dadurch deutlich heller geworden. Die Dialyse wurde erneut fortgesetzt, indem mit parallelgeschaltetem Widerstand begonnen, schließlich mit direktem Strom die Dialyse nach 24 Stunden zu Ende gebracht wurde. Die wässerige Lösung wurde im Vacuum bei 22° zur Trockene eingedampft. Diese Elektrodialyse lieferte zwei Dialyseprodukte, nämlich einerseits die Abtrennung (1a) und andererseits das Endprodukt (1b). Von diesen beiden seien im Nachstehenden einige Konstanten angeführt: *)

	Dialyseprodukt 1a:	Dialyseprodukt 1b:
Reaktion:	sauer: $p_H = 4{,}8$	sauer: $p_H = 4{,}8$
Aschebestimmung:	0,3 %	0,0792 %
Spezifische Drehung:	$[\alpha]_D^{20} = -2{,}81$	$[\alpha]_D^{20} = -29{,}81$
	c = 0,533 %; L = 1	c = 0,400 %; L = 2
Ausbeute:	6,5 %	30 %

*) Vergleiche die Anmerkung auf Seite 84.

Der zweite Versuch einer Reinigung des Sapindussaponins mit Hilfe der Elektrodialyse wurde mit Schwachstrom, d. h. unter Belassung der beiden nebeneinandergeschalteten Osramlampen bis zur beendigten Dialyse durchgeführt. Die Dauer der Elektrodialyse betrug 60 Stunden und die Ausbeute 40 %. Die Reaktion dieses Produktes war schwach sauer: $p_H = 4{,}8$; sein Aschegehalt betrug 0,29 % und die spezifische Drehung betrug: $[\alpha]_D^{20} = -18{,}48$; (c = 1,028 %; L = 1).

C. Saponinum purum albissimum „Merck"

welches nach brieflichen Angaben von Merck aus Radix Saponariae hergestellt ist und zwar, wie die Literaturangaben [1]) besagen, aus Gypsophilawurzel.

Die Reaktion dieses Handelsproduktes ist sauer; seine Aschebestimmung ergab 1,35 % und als spezifische Drehung konnte $[\alpha]_D^{20} = +33{,}32$ (c = 2,578 %; L = 2) festgestellt werden [2]). In derselben Weise wie Sapindussaponin „Merck" wurden zwei Elektrodialyseprodukte hergestellt, von denen das eine mit Starkstrom, d. h. unter allmählicher Stromverstärkung bis zur Fortlassung des Vorschaltwiderstandes dialysiert wurde, das andere mit Schwachstrom, d. h. unter Belassung des Widerstandes mit zwei nebeneinandergeschalteten Osrambirnen. Die jeweilige Dauer der Dialyse betrug 60 Stunden. Die Ausbeute betrug in beiden Fällen 50 %.

	Schwachstrom-Dialyseprodukt:	Starkstrom-Dialyseprodukt:
Reaktion:	sauer: $p_H = 3{,}3$	sauer: $p_H = 3{,}2$
Aschebestimmung:	0,186 %	0,096 %
Spezifische Drehung: [2])	$[\alpha]_D^{20} = +13{,}46$; c = 2,00 %; L = 2	$[\alpha]_D^{20} = +13{,}15$; c = 2,006 %; L = 1

Mit dem Handelsprodukt führte man Lösungsversuche aus, die zeigten, daß es in 90 %igem Alkohol, Methanol und Aceton nur teilweise löslich war; der mit Alkohol oder Methylalkohol in Lösung gegangene Anteil gab, in Äther gegossen, eine Ausflockung, die Acetonlösung eine Trübung mit gelbem Bodensatz. 70 %iger Alkohol und 80 %iges Methanol vermochten das Handelsprodukt in geringeren Konzentrationen unter schwachem Erwärmen im Wasserbad leicht zu lösen. Beide Lösungen gaben

[1]) Kofler, L., Die Saponine, Wien 1927, Seite 269.

[2]) Vergleiche die Anmerkung auf Seite 84.

in Äther gegossen eine starke, weiße Ausflockung, und nach 12 stündigem Stehen schieden sich aus dem Alkohol-Äthergemisch an der Wandung des Glases Kristalle aus. Der Ausfall der Lösungsversuche veranlaßte uns zu folgendem Vorversuch:

5 g Saponin wurden in 50 ccm 80%igem Methylalkohol heiß gelöst, wobei nur ein Teil in Lösung ging. Die filtrierte Lösung wurde unter ständigem Umschütteln in 150 ccm Äther filtriert, wobei eine Ausfällung erfolgte, welche abgenutscht und erneut mit 200 ccm kaltem Methylalkohol behandelt wurde. Das methylalkoholische Filtrat wurde abermals aus Äther umgefällt und verblieb längere Zeit im Eisschrank. Nach dieser Zeit hatten sich neben weißen, amorphen Fällung vereinzelte derbe Kristalle ausgeschieden.

Der bei der ersten methylalkoholischen Behandlung ungelöste Rest wurde erneut mit 80%igem Methanol behandelt, worin er sich bis auf einen kleinen, schmierigen Rückstand löste. Er wurde zur Ausfällung ebenfalls nach dem Erkalten in 150 ccm Äther filtriert. Diese Ausfällung ließ nach eintägigem Stehen im Eisschrank reichlich splitterförmige Kristalle neben kleinen amorphen Ausscheidungen erkennen. Sie wurde abfiltriert und mit kaltem konz. Methylalkohol behandelt; dabei löste sich der amorphe Teil auf, während die Kristalle ungelöst blieben und durch Filtration abgetrennt wurden. Das Filtrat wurde erneut aus Äther umgefällt und für längere Zeit in den Eisschrank gebracht ohne mehr Kristalle auszuscheiden.

Neben diesem Versuch wurde gleichlaufend ganz analog den obigen Angaben ein zweiter Versuch mit reinem Methylalkohol statt mit 80%igem durchgeführt, der jedoch in allen Stücken ein schlechteres Ergebnis zeigte.

2. Hauptuntersuchung.

Auf Grund sämtlicher bisher durchgeführter Vorversuche entschied man sich für die Inangriffnahme des Saponinum purum albissimum „Merck“ unter Zugrundelegung der vorstehend beschriebenen Fällungen. Da das elektrodialysierte Produkt nicht die schöne weiße Farbe hatte, wie das Ausgangsmaterial und wegen der sauren Reaktion, welche das dialysierte Saponin annimmt, eine Zersetzung während der Elektrodialyse nicht ausgeschlossen erschien, benutzte man für die nachfolgenden Versuche

das reinweiße Handelsprodukt, zumal es auch interessant erschien festzustellen, welcher Art diese darin zweifellos enthaltenen Verunreinigungen waren.

100 g Saponinum purum albissimum Merck wurden kalt unter ständiger Bewegung auf der Schüttelmaschine mit 1000 ccm eines 80 %igen Methylalkohols behandelt, wobei etwa 40 % des Saponins in Lösung gingen. Die Lösung A [1]) wurde vom unlöslichen Rückstand B abfiltriert und in 3 kg Äther in dünnem Strahl am Rührwerk eingegossen. Es erfolgte eine graustichig-weiße Ausflockung (A l), die sich zu Boden setzte. Diese wurde abgenutscht und mit Äther rasch nachgewaschen und sofort im Vacuumtrockenschrank getrocknet. Sie bildete ein fast weißes Produkt, mit welchem man folgende Bestimmungen ausführte:

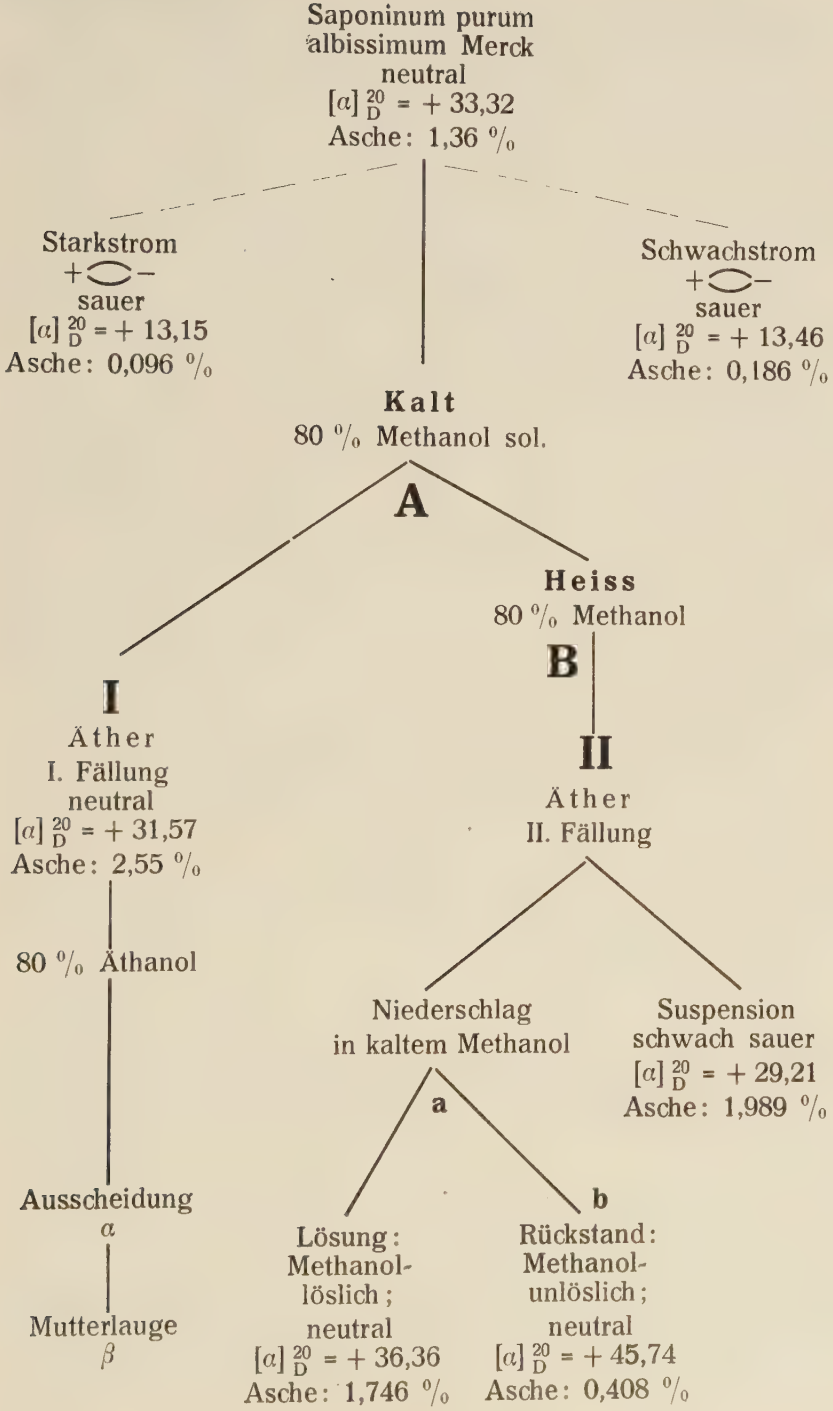
Eine Aschebestimmung ergab aus 0,2035 g Substanz = 0,0052 g Asche, entsprechend 2,55 %. Die spezifische Drehung zeigte in Wasser: $[\alpha]_D^{20} = +31{,}57$ (c = 2,0005 %; L = 1 [2]). Lösungsversuche mit diesem Präparat zeigten folgende Verhältnisse:

	kalt löslich	heiß löslich	nach Erkalten
95 % Alkohol	wenig	teilweise	Ausscheidung
85 % Alkohol	teilweise	teilweise	Ausscheidung
80 % Alkohol	teilweise	teilweise	Ausscheidung
70 % Alkohol	teilweise	fast völlig	Trübung
konz. Methanol	teilweise	teilweise	—
70 % Methanol	teilweise	fast völlig	—
konz. Aceton	wenig	teilweise	Trübung
70 % Aceton	teilweise	fast völlig	—

[1]) Siehe das Arbeitsschema auf Seite 89.

[2]) Vergleiche die Anmerkung auf Seite 84.

Arbeitsschema:



Auf Grund der Lösungsversuche wurde die noch 30 g betragende Gesamtmenge der Fällung (A. I.) in 1000 ccm Äthylalkohol derart gelöst, daß man die Substanz zuerst in 209 ccm Wasser auflöste und hierauf mit 95%igem Alkohol ergänzte. Das derart verdünnte Alkoholgemisch enthielt dann 80 Volumprozent Äthylalkohol. Bis auf wenige braune Flocken war alles in Lösung gegangen. Die alkoholische Lösung wurde durch einen Heißwassertrichter filtriert und über mehrere Tage in den Eisschrank gestellt. Nach dieser Zeit hatte sich eine feine amorphe Abscheidung gebildet, die abfiltriert wurde. Das Filtrat wurde nach Zusatz von 100 ccm Äthylalkohol erneut in den Eisschrank verbracht, worauf sich abermals eine Ausscheidung bildete, welche abfiltriert und mit der ersten vereinigt wurde (A. I. α). Diese Ausscheidungen wurden mit 50 ccm Wasser in Lösung gebracht. Durch Alkoholzusatz brachte man sie auf einen Alkoholgehalt von 80 Volumprozent. Sie bildete über Nacht eine Gallerte, welche nur zum Teil in siedendem Alkohol löslich war. Sie wurde infolgedessen mit 800 ccm 90%igem Äthylalkohol vermengt, auf 76 ° erwärmt und durch einen Heißwassertrichter filtriert. Der geringe Filtrationsrückstand blieb unberücksichtigt. Die Alkohollösung wurde in den Eisschrank gestellt und ließ nach eintägigem Stehen feine, tropfenförmige Gebilde ausscheiden.

Die weitere Verarbeitung dieses Teiles siehe Seite 96.

Mit der zum zweiten Mal filtrierten Mutterlauge (A. I. β) wurden folgende Vorversuche gemacht:

1. 10 ccm der Mutterlauge wurden erst mit 10, dann mit 20 ccm absolutem Alkohol versetzt. Es erfolgte augenblicklich eine milchigweiße Ausfällung.

2. Je 10 ccm der Mutterlauge und je 10 ccm absoluter Alkohol wurden genau auf 60 ° erhitzt und bei dieser Temperatur zusammengegossen. Die Flüssigkeiten mischten sich klar. Erst beim langsamen Erkalten erfolgte eine Ausscheidung, die unter dem Mikroskop betrachtet, feine, tröpfchenförmige Gebilde erkennen ließ.

Infolgedessen wurde analog dem Vorversuch 2 vorgegangen: 1000 ccm 95%iger Äthylalkohol, sowie 1000 ccm der Mutterlauge wurden auf dem Wasserbad bis 60 ° erwärmt und bei dieser Temperatur zusammengegossen, in den Eisschrank gebracht. Nach zweitägigem Stehen wurde die aus feinen, tröpfchenförmigen Gebilden bestehende Ausscheidung abfiltriert und im Exsiccator

getrocknet. Die Ausbeute betrug 13 g. Das feine, nur noch schwach hygroskopische Pulver war von fast reinweißer Farbe; es zeigte ein außerordentliches Schaumvermögen. Das Filtrat wurde im Vacuum zur Trockene eingeengt. Es verblieben 5 g einer gelben, spröden, leicht pulverisierbaren Masse, die leicht wasserlöslich war und ebenfalls stark schäumte.

Die weitere Aufarbeitung dieser Fraktionen siehe Seite 95.

Der in kaltem 80 %igem Methanol unlösliche Teil (B) wurde nun mit 1000 ccm 80 %igem Methanol eine Stunde lang am Rückflußkühler erhitzt, wobei er sich bis auf einen kleinen, braunen Bodensatz völlig löste. Die filtrierte Lösung wurde nunmehr nach dem Erkalten allmählich unter ständiger Bewegung am Rührwerk in 3 kg Äther eingegossen. Die entstandene Ausfällung (B. II.) war reinweiß und zum Teil in der gesamten Flüssigkeitsmenge suspendiert. Nach mehrtägigem Stehen wurde der Niederschlag abfiltriert, jedoch vermochte weder Filtrieren, noch vorsichtiges Abnutschen die Suspension zu trennen. An der Wandung, sowie am Boden des Glases, haftete ein reinweißer Niederschlag (B. II. a). Dieser wurde herausgekratzt, mit reinem Methylalkohol fein angerieben und kalt ausgezogen, wobei jedoch nur ein Teil in Lösung ging. Nach zweitägigem Stehen wurde der weiße Niederschlag vom Methylalkohol abfiltriert und im Vacuumtrockenschrank getrocknet. Die Ausbeute betrug 20 g. Mit dieser Fraktion führte man wieder die üblichen Bestimmungen aus[1]): Reaktion: neutral; Aschebestimmung: 0,408 %; spezifische Drehung in Wasser: $[\alpha]_D^{20} = +45{,}49^0$ (c = 2,0311 %; L = 1).

Heißes konzentriertes Methanol, sowie 70 % Alkohol, lösten die Substanz fast völlig. 90 %iger Alkohol vermochte in der Wärme die Substanz nur teilweise zu lösen. Mit 70 %igem Methanol und 70 %igem Aceton erfolgte vollkommene Lösung, in Aceton war die Löslichkeit nur eine geringe. Beim langsamen Verdunsten erfolgte aus der alkoholischen Lösung eine Trübung, aus der 70 %igen Alkohollösung eine Ausscheidung von Kristallen am Rande des Glases.

Auf Grund der Ergebnisse im Lösungsversuch wurde die Gesamtmenge in 200 ccm 70 %igem Äthylalkohol heiß gelöst und durch einen Heißwassertrichter filtriert. Nach einem achttägigen Verweilen im Eisschrank hatten sich große, derbe, farb-

[1]) Vergleiche die Anmerkung auf Seite 84.

lose Kristalle ausgeschieden, welche am Boden und an der Wandung des Glases einen dichten Belag bildeten. Die Kristalle wurden von der Mutterlauge abfiltriert und diese wieder in den Eisschrank gebracht. Sie wurden im Vacuumexsiccator über Chlorcalcium getrocknet und ergaben eine Ausbeute von 8,2 g. Sie schmeckten schwach süß, reduzierten Fehling'sche Lösung stark und waren leicht wasserlöslich. Da der Geschmack und das Reduktionsvermögen auf ein Kohlehydrat hindeuteten, wurde eine genauere Identifizierung mit Hilfe von Fischers Phenylhydracinreagens vorgenommen.

Mit 0,25 g wurde nach der üblichen Methode ein Phenylosazon hergestellt. Das gebildete Osazon stellte kristallinische, kugelige, gelbe Aggregate dar. Den anfangs beobachteten Schmelzpunkt von 194° für das exiccatortrockene Produkt vermochte man durch mehrere Umkristallisationen aus 95%igem Alkohol auf 199° heraufzudrücken, wo er schließlich konstant blieb. Dieser Schmelzpunkt sowie das mikroskopische Bild des vorliegenden Osazons paßt annähernd genau für Milchzucker. Wir stellten uns daher ein Vergleichsasazon aus reinem Milchzucker her, dessen Schmelzpunkt jedoch auch nicht über 199° zu bringen war. Ein gleichfalls durchgeführter Mischschmelzpunkt ergab ebenfalls 199°. Man versuchte weiterhin die Substanz durch das p-Nitrophenylosazon zu identifizieren. Das daraus wie auch aus reinem Milchzucker hergestellte Osazon konnte nicht auf den in der Literatur für das Laktose-p-nitro-phenyl-osazon angegebenen Schmelzpunkt gebracht werden.

Zur weiteren Identifizierung bestimmte man vom fraglichen Produkt sowie von reinem Milchzucker einen Schmelzpunkt, die die beide bei 204° lagen. Beide Produkte gemischt zeigten einen solchen von 205,5°.

Die spezifische Drehung des reinen Milchzuckers in Wasser ergab: $[\alpha]_D^{20} = +48{,}72$ ($c = 2{,}0004\%$; $L = 1$) und diejenige unseres Produktes: $[\alpha]_D^{20} = +49{,}22$ ($c = 2{,}0005\%$; $L = 1$). [1])

Mit der fraglichen Substanz wie zur Kontrolle mit reinem Milchzucker wurden folgende Farbreaktionen durchgeführt:

1. Die Zuckerlösungen brachte man, mit 10%igem Ammoniak versetzt, in ein Wasserbad, das eben zu kochen aufgehört hatte,

[1]) Vergleiche die Anmerkung auf Seite 84.

um den Ammoniak zu vertreiben, ohne daß die Flüssigkeit selbst zum Kochen kam. Nach etwa 15 Minuten trat in beiden Gläsern krapprote Farbe auf [1]).

2. Die Zucker wurden mit einer Lösung von Kobaltnitrat und Natronlauge versetzt, es entstand in beiden Fällen eine kornblumenblaue Farbe [2]).

Aus diesen vergleichenden Prüfungen geht mit Sicherheit hervor, daß es sich bei der fraglichen Substanz um Milchzucker handelt.

Die Methylalkohollösung der Fällung (B. II. b) wurde im Vacuum zur Trockene eingeengt. Die Ausbeute des gelblichweißen Rückstandes betrug 10 g. Die wie üblich durchgeführten Bestimmungen [3]) ergaben Folgendes: Die Reaktion war neutral. 0,1263 g Substanz ergaben 0,0022 g Asche, entsprechend 1,746 %. Die spezifische Drehung in wässeriger Lösung bei einer Konzentration von 2,0002 % betrug: $[\alpha]_D^{20} = + 36{,}26$. Die Substanz war in 90%igem Alkohol, Methanol und Aceton teilweise, in 70%igem Äthylalkohol, 70%igem Methylalkohol und 70%igem Aceton fast völlig löslich. Beim langsamen Verdunsten schieden sich aus der 70%igen Äthylalkohollösung neben reichlich amorphen Abscheidungen feine, zarte Kristallbündel aus. Die weiteren Versuche siehe Seite 97.

Das Methylalkohol-Äthergemisch, welches fein verteilte Substanz in einer sich nicht absetzenden Suspension enthielt, wurde vom Äther durch Destillation befreit. Die schließlich verbleibende Methylalkohollösung war fast klar. Sie wurde filtriert und im Vacuum zur Trockene eingeengt. Das Produkt war gelblichweiß und wog 12 g. Es hatte eine schwach saure Reaktion. Die Aschebestimmung ergab aus 0,1257 g Substanz 0,0025 g Asche, entsprechend 1,989 %. Eine 2,0617%ige wässerige Lösung [3]) zeigte eine spezifische Drehung von: $[\alpha]_D^{20} = + 29{,}21^\circ$ (c = 2,0617 %; L = 1). Die Substanz zeigte folgende Lösungsverhältnisse:

---

[1]) Wöhlk, Zeitschr. f. analyt. Chem. 43/1904/670.

[2]) Rosenthaler, L., Der Nachweis organischer Verbindungen, XIX. u. XX. Band der Sammlung: Die Chemische Analyse. II. Aufl. 1923.

[3]) Vergleiche die Anmerkung auf Seite 84.

	kalt löslich	heiß löslich	nach Erkalten
95 % Alkohol	wenig	teilweise	Abscheidung
85 % Alkohol	wenig	teilweise	Abscheidung
70 % Alkohol	wenig	fast völlig	Abscheidung
konz. Methanol	fast unlöslich	teilweise	—
85 % Methanol	völlig	völlig	Abscheidung
70 % Methanol	teilweise	völlig	—
konz. Aceton	fast unlöslich	teilweise	Abscheidung
70 % Aceton	wenig	völlig	—

Auf Grund der Lösungsversuche wurden zunächst 2 g dieser Saponinfraktion mehrmals am Rückflußkühler mit erneuten Mengen von je 50 ccm Äthylalkohol auf dem Wasserbad ausgezogen und heiß filtriert. Die vereinigten Filtrate ließen beim Verweilen im Eisschrank eine mehr oder weniger deutliche Ausfällung erkennen, die sich, unter dem Mikroskop betrachtet, als ein Gemenge von durchsichtigen Kügelchen und amorphem Pulver erwies. Da bei diesem Versuch die ursprüngliche Menge Substanz auch bei vielmaligem Auskochen mit 95%igem Äthylalkohol nur teilweise in Lösung zu bringen war, versuchte man sie in schwächerem Alkohol zu lösen. Die ca. 12 g betragende Restmenge wurde dementsprechend in 100 ccm 85%igem Äthylalkohol gelöst und durch einen Heißwassertrichter filtriert. Im Eisschrank war die Lösung nach eintägigem Stehen vollkommen erstarrt. Sie wurde bei Zimmertemperatur wieder dünnflüssiger. Die Ausscheidung zeigte, unter dem Mikroskop betrachtet, feinste amorphe Gebilde. Auf einen weiteren Zusatz von 95%igem Äthylalkohol und längerem Verweilen im Eisschrank schieden sich neben kleineren, kristallinischen Gebilden, große Kristalle aus. Die Abscheidung wurde abgenutscht und scharf getrocknet. Das Filtrat gelangte nochmals in den Eisschrank und die abermals erfolgenden Abscheidungen wurden mit der ersten vereinigt. Die vollkommen getrocknete Substanz wurde mit kaltem Methylalkohol angerührt, einen Tag stehen gelassen und filtriert. Es war beabsichtigt, die feinen kristallinischen Gebilde von den großen Kristallen zu trennen, was auch gelang. Die im Filter zurückbleibenden, in konz. kalten Methylalkohol unlöslichen, großen Kristallen konnten als Milchzucker nach den auf Seite 92 und 93 angegebenen Reaktionen identifiziert werden.

Die Methylalkohollösung wurde eingeengt und zur Kristallisation beiseite gestellt. Da ein Teil des Milchzuckers aber doch in Methylalkohol in Lösung gegangen war, schieden sich immer wieder weitere Mengen Milchzucker kristallinisch aus.

Der im Vorhergehenden besprochene Untersuchungsgang hatte gezeigt, daß ein derart behandeltes Saponin sich nicht nur von ihm anhaftenden Milchzucker befreit werden, sondern daß man vielmehr auch zur Isolierung von nicht aus Milchzucker bestehenden kristallisierenden Fraktionen gelangen kann. Zur Beschaffung weiterer Mengen der kristallisierten Saponinfraktion nahm man eine neue Menge des Handelssaponins in Arbeit, wobei der bei der ersten Aufarbeit eingeschlagene Weg soweit notwendig modifiziert wurde.

150 g Saponinum purum albissimum Merck wurden kalt unter fortwährender Bewegung auf der Schüttelmaschine in 1500 ccm 80 %igem Methanol gelöst und vom unlöslichen Saponinanteil abfiltriert. Diese filtrierten 1500 ccm Saponinlösung A ergaben, in dünnem Strahl in 3,5 kg Äther gegossen, die Fällung A. I.[1]).

Der in kaltem Methylalkohol unlösliche Teil wurde in 1 kg 80 %igem Methanol heiß behandelt, wobei er sich bis auf einen kleinen Rückstand völlig löste. Bei näherer Untersuchung erwies sich der Rückstand in der Hauptsache als Milchzucker, was man mit den auf Seite 92 u. 93 geschilderten Reaktionen bewies. Er blieb daher im Folgenden unberücksichtigt. Die heiße, methylalkoholische Saponinlösung ließ man erkalten und goß, nachdem man sie filtriert hatte, in dünnem Strahl am Rührwerk in 3 kg Äther ein. Diese dabei entstehende Ausfällung ergab die Fällung B. II. Die Fällung A. I. sowie die Fällung B. II[1]) wurden je für sich scharf abgenutscht, mit Äther rasch nachgewaschen und im Vacuumexsiccator getrocknet.

Die Filtrate A. I. und B. II. wurden vereinigt und im Vacuum zur Trockene gebracht. Es resultierten 2,4 g eines hellbraunen Rückstandes, der nicht weiter verarbeitet wurde. Der Rückstand B. II. wurde wiederholt mit konz. Methanol behandelt. Dabei blieben schließlich 30,7 g eines sandigen, weißen Rückstandes, der sich in der Hauptsache als Milchzucker erwies.

Die nähere Untersuchung der vereinigten methylalkoholischen Lösungen ergaben, daß auch darin noch Milchzucker enthalten

[1]) Siehe das Arbeitsschema auf Seite 89.

war, weshalb auf eine weitere Reinigung der Fraktion verzichtet wurde. Der exsiccatortrockene Rückstand A. I. wurde feinst gepulvert, mit kaltem konz. Methanol angerieben, einige Stunden unter öfterem Umschwenken stehen gelassen und sodann filtriert. Diese Methanolvorbehandlung wurde so oft wiederholt, bis der am Boden des Gefäßes sich absetzende Rückstand ein einheitliches, pulveriges Aussehen zeigte. Die vereinigten Methylalkohol-Filtrate enthielten noch reichlich Milchzucker, weshalb auch hier auf eine weitere Reinigung verzichtet wurde. Das Gewicht des in Methylalkohol unlöslichen Anteiles A. I. betrug 54 g. Er stellte ein reinweißes Pulver dar, das stark zum Niessen reizte und kratzend bitter schmeckte. Lösungsversuche mit dem methylalkohol-unlöslichen Rückstand der Ätherfällung A. I. wurden in 60-, 65-, 70-, 75-, 80-, 85- und 90%igem Alkohol durchgeführt. Es wurden jeweils 0,1 g Substanz in 5 ccm des betreffenden Alkohols heiß gelöst, heiß filtriert und die beim Erkalten entstandene Ausfällung unter dem Mikroskop beobachtet. Die Lösung bei einer Alkoholkonzentration von 60- bis mit 80% war eine vollständige. Es erfolgte bei diesen Versuchen beim Erkalten keine Ausfällung. 90%iger Alkohol vermochte die Substanz nur sehr unvollkommen zu lösen, ergab aber trotzdem nach dem Erkalten keine Ausfällung. Das beste Resultat zeitigte die Behandlung mit 85%igem Äthylalkohol, der die Substanz fast vollständig löste und beim Erkalten eine reichliche Ausfällung ergab, die, unter dem Mikroskop betrachtet, ein sehr einheitliches von runden, rosettenartigen Gebilden erkennen ließ. Somit wurde die Gesamtmenge der Fällung A. I. in 1500 ccm 85%igem Methylalkohol auf 76° erhitzt, durch einen Heißwassertrichter filtriert und in den Eisschrank gebracht. Die am nächsten Tag unter dem Mikroskop betrachtete Ausfällung bestätigte das im Vorversuch beobachtete Ergebnis. Sechsmaliges Umkristallisieren der jeweils abgenutschten, noch alkoholfeuchten Fällung aus heißem 85%igem Äthylalkohol führte zu keinem deutlich kristallisierten Präparat. Man versuchte daher das Umkristallisieren verschiedentlich zu modifizieren: Behandlung mit Kohle, Variation des Alkokolgehaltes von 81 bis 89%, Lösen mit wenig Wasser und Zugabe von Alkohol bis zur beginnenden Trübung und Variation der Konzentration an Saponin ergaben alle unbefriedigende Resultate.

Schließlich zeigte sich, daß eine weitere Reinigung nur möglich ist, wenn ganz bestimmte Konzentration von Alkohol und

Saponin und eine bestimmte Temperatur innegehalten wird. Als geeignete Saponinkonzentration erwies sich eine solche von 3%. Um diese einhalten zu können, war es notwendig, vor dem frischen Umkristallisieren das Saponin im Exsiccator zu trocknen. Die geeignetste Alkoholkonzentration liegt bei 85 %, die geeignetste Temperatur bei 76 °.

Auf Grund dieser Erfahrung wurde so vorgegangen, daß man die getrocknete Substanz zu 3 % in 85 %igem Äthylalkohol auf dem Wasserbad zu genau 76 ° erhitzte und durch einen Heißwassertrichter filtrierte. Nach dem Erkalten schied sich im Eisschrank in dieser Weise ein reichlicher weißer Niederschlag aus, der, unter dem Mikroskop betrachtet, aus großen und kleinen, einheitlichen, feinstrahligen Sternchen bestand.

Wie sehr das Gelingen der Kristallisation von den erwähnten Bedingungen abhängig ist, zeigt sich, wenn man dieselben nicht genau innehält. Versucht man nämlich, dieses kristallisierte Saponin auf modifizierte Weise, z. B. durch Variation der Alkohol- oder Saponinkonzentration umzukristallisieren, so erhält man plötzlich wieder vollkommen amorphe, tröpfchenförmige Ausfällungen.

Die erwähnte Methode der Umkristallisation ist sehr verlustreich, indem jeweils nur ein Teil des in Arbeit genommenen Saponins beim Erkalten ausfällt. Man kann jedoch die Hauptmenge des in Lösung gebliebenen Teiles zurückgewinnen, indem man ihn mit Äther fällt. Diese Fällung läßt sich infolge der Verdunstungskälte des Äthers nicht gut trocknen, da sie durch Aufnahme von Wasser hornartig beim Trocknen wird. Sie wurde jeweils noch ätherfeucht in 85 %igem Alkohol gelöst. Die nach dem Erkalten amorph ausfallende Substanz kann nun abfiltriert, getrocknet und in der früher beschriebenen Weise umkristallisiert werden. Sie ergibt dann dieselben sternförmigen, einheitlichen Kristalle, wie die erste Kristallisation. Daraus ist ersichtlich, daß das in der Mutterlauge der ersten Kristallisation verbliebene Saponin dasselbe ist, wie das zuerst auskristallisierende.

Die äther-alkoholische Endmutterlauge hinterläßt nach dem Abdampfen des Äthers und Entfernen des Alkohols im Vacuum noch weitere Mengen Saponin. Der Rückstand ist leicht wasserlöslich, schäumt sehr stark, ist aber braun gefärbt, ein Zeichen, daß die gefärbten Verunreinigungen bei der geschilderten Umkristallisationsmethode in der Mutterlauge zurückbleiben.

Auch der milchzuckerfreie Saponinanteil der ersten 100 g des verarbeiteten Saponins[1]) konnte in gleicher Weise umkristallisiert und gereinigt werden. Er wurde daher mit der zweiten Portion vereinigt.

Das nach der vorhergehend beschriebenen Methode erhaltene Saponin stellt nach dem Trocknen im Exsiccator ein weißes, leicht wasserlösliches Pulver dar. Seine wässerigen Lösungen schäumen außerordentlich stark. Das Pulver reizt sehr stark zum Niessen.

Zwecks Entscheidung, inwiefern das mehrfache Umkristallisieren aus 85 %igem Äthylalkohol nach oben geschilderter Methode einen Reinigungsprozeß darstellt, wurde von zwei aus verschiedenen Kristallisationsphasen stammenden Saponinen die Drehung, der Aschegehalt und die Acidität bestimmt[2]). Dabei wird im Folgenden das Produkt, das sich unter dem Mikroskop insofern als unrein erwies, als es neben den erwähnten kristallisierten Rosetten noch farblose, amorphe Tröpfchen aufwies, als Saponin II, dagegen dasjenige, das unter dem Mikroskop einheitlich aus Rosetten bestand, als Saponin I bezeichnet:

Saponin I:

Aschebestimmung: 0,5034 g Substanz lieferten 0,0116 g Asche, was einem Aschegehalt von 2,306 % entspricht.

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +17{,}82$ (c = 2,5095 % in Wasser; L = 1).

Reaktion: neutral, $p_H = 6{,}4$.

Saponin II:

Aschebestimmung: 0,3656 g Substanz ergaben 0,0152 g Asche, was einem Aschegehalt von 4,157 % entspricht.

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +23{,}52$ (c = 2,0334 % in Wasser; L = 1).

Reaktion: neutral, $p_H = 6{,}4$.

Das Saponin wurde hierauf dreimal mit 85 %igem Äthylalkohol umkristallisiert, worauf es unter dem Mikroskop ein einheitliches Bild von kristallisierten Rosetten aufwies. Die damit erneut durchgeführten Bestimmungen[2]) zeigten Folgendes:

---

[1]) Siehe Seite 93.

[2]) Vergleiche die Anmerkung auf Seite 84.

Aschebestimmung: 0,1510 g Substanz ergaben 0,0035 g Asche, was einem Gehalt von 2,318 % entspricht.

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +17{,}35$ (c = 1,003 % in Wasser; L = 1).

Reaktion: neutral, $p_H = 6{,}4$.

Die qualitative Bestimmung der Asche einer einheitlichen kristallisierten Saponinfraktion ergab, daß dieselbe zur Hauptsache aus Calcium (Prüfung mit Ammoniumoxalat) neben wenig Magnesium (Prüfung mit Dinatriumphosphat) bestand.

Elementar-Analyse des kristallisierten Saponins.

I. 4,405 mg Substanz lieferten 8,090 mg CO_2 u. 3,350 mg H_2O.
II. 4,310 mg Substanz lieferten 7,895 mg CO_2 u. 3,235 mg H_2O.

Daraus errechnet sich für I der Gehalt an:

C = 50,08 %
H = 8,5084 %
O = 41,412 %,

für II der Gehalt an:

C = 50,07 %
H = 8,397 %
O = 41,533 %.

Als Mittelwert beider Resultate läßt sich infolgedessen angeben:

C = 50,075 %
H = 8,452 %
O = 41,477 %.

22,430 mg Substanz verloren beim Trocknen im Hochvacuum bei einer Temperatur von 18° 1,480 mg an Gewicht.

Zusammenstellung
der Elementar-Analysen früherer Autoren.

	C	H	O
Bussy [1])	51,00 %	7,40 %	41,60 %
Rochleder u. Schwarz [2])	52,54 %	7,26 %	40,20 %
Bolley [3])	48,58 %	6,74 %	44,68 %
Rochleder u. von Payr [4])	52,77 %	7,45 %	39,78 %
Christophson I [5])	54,42 %	8,31 %	37,26 %
Christophson II [5])	53,60 %	8,24 %	38,15 %
Kruskal (Durchschnitt) [6])	49,79 %	6,88 %	43,33 %
Kruskal (errechnet) [6])	50,00 %	6,87 %	43,13 %
Rosenthaler I [7])	54,01 %	7,16 %	38,83 %
Rosenthaler II [7])	53,58 %	7,02 %	39,40 %
Saponalbin (errechnet) [7])	53,43 %	6,98 %	39,59 %
Methylsaponalbin [7])	54,51 %	7,23 %	38,26 %
Wentrup [8])	53,81 %	7,27 %	38,29 %
Zimmermann [9])	54,73 %	7,25 %	38,02 %
Kofler u. Dafert I [10])	47,83 %	7,60 %	44,57 %
Kofler u. Dafert II [10])	48,43 %	7,60 %	43,97 %
Casparis u. Martius (Mittelwert)	50,07 %	8,45 %	41,47 %

[1]) Journ. de Pharm. 1833/XIX/1.
[2]) Sitzungsbericht der Wiener Akademie 11/335/1854.
[3]) Annalen d. Chem. u. Pharm. 90/211/1854.
[4]) Sitzungsbericht der Wiener Akademie 45/7/1862.
[5]) Christophson, Vergleichende Untersuchungen u. s. w. Diss. Dorpat 1874.
[6]) Arbeiten d. Pharmakol. Inst. zu Dorpat, hrsg. v. Kobert, 6 23 1891.
[7]) Rosenthaler, Arch. d. Pharm. 243/499/500/1905.
[8]) Wentrup, Beiträge z. Kenntnis d. Saponine. Diss. Straßburg 1908.
[9]) Zimmermann, Über d. Spaltung d Gypsophilasap. Straßburg 1909.
[10]) Kofler u. Dafert, Ber. d. D. Pharm. Ges. 32/226/1922.

Versuch zur Gewinnung der freien Saponinsäure.

3 g kristallisiertes Saponin wurden in 10 ccm Wasser gelöst, mit 2 ccm einer 25%igen Salzsäure und hierauf mit soviel 95%igem Äthylalkohol versetzt, bis eine bestehen bleibende Trübung entstand. Aus dieser alkoholischen Lösung fällte man das saure Saponin mit 200 ccm Äther aus. Schon nach einstündigem Stehen wurde die Ausfällung abgenutscht, sorgfältig mit Äther nachgewaschen und im Vacuumexsiccator scharf getrocknet. Die Prüfung des getrockneten Präparates durch Lösen einer Probe in Wasser, Ansäuern mit Salpetersäure und Versetzen mit Silbernitratlösung ergab noch die Anwesenheit von HCl. Man reinigte die Substanz durch Lösen in Alkohol und Umfällen mit Äther solange, bis die Reaktion auf HCl negativ verlief, wozu eine dreimalige Wiederholung der Reinigungsmethode notwendig war.

Diese Substanz zeigte folgende Konstanten, welche der Übersichtlichkeit halber den beiden elektrodialysierten Saponinen gegenübergestellt seien[1]):

I. Mit Salzsäure umgefälltes Saponin:

Reaktion: sauer, $p_H = 3{,}15$ (c = 1).

Aschebestimmung: 0,1035 g Substanz ergaben 0,0012 g Asche, entsprechend 1,15 %.

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +20{,}00$ (c = 1,0325 % in Wasser; L = 1).

II. Mit Schwachstrom dialysiertes Saponin[2]):

Reaktion: sauer, $p_H = 3{,}2$.

Aschebestimmung: 0,096 %.

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +13{,}15$.

III. Mit Starkstrom dialysiertes Saponin[2]):

Reaktion: sauer, $p_H = 3{,}3$.

Aschebestimmung: 0,186 %.

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +13{,}46$.

Sowohl das aus salzsaurer Lösung umgefällte Saponin, wie die beiden elektrodialysierten Handelsprodukte, sind beide in

[1]) Vergleiche die Anmerkung auf Seite 84.

[2]) Die genaueren Daten der Bestimmungen finden sich auf Seite 86.

85%igem Äthylalkohol bedeutend leichter löslich, als das kristallisierte Saponin. Aus 85% Alkohol fallen sie in 3%iger Lösung (siehe Seite 97) nur in geringer Menge amorph aus. Bei Erhöhung der Saponinkonzentration, wie auch der Alkoholkonzentration, erhält man nach dem Erkalten reichlichere Fällungen. Sie sind aber stets feinkörnig amorph und es gelang in keiner Weise, diese sauren Saponine zu kristallisieren.

Versuch zur Darstellung der Calciumverbindung der freien Saponinsäure.

1,5 g des mit Schwachstrom elektrodialysierten Saponins (siehe Seite 86) wurden in 10 ccm Wasser gelöst und mit einer gesättigten Calciumhydroxydlösung (100 ccm CaOH-Lösung entsprechen 4,04 ccm n−HCl) neutralisiert. Die Titration wurde mit einer Mikrobürette vorgenommen und mit Hilfe der Tüpfelmethode der Neutralisationspunkt bestimmt. Zur Neutralisation des sauren Saponins waren 21,40 ccm Calciumhydroxydlösung notwendig.

21,40 ccm CaOH entsprechen 0,1072 Ca.

0,1072 Ca bezogen auf 1,500 g Saponin entsprechen 7,417%.

Die derart neutralisierte Lösung wurde im Vacuum zur Trockene eingedampft. Als Rückstand verblieben 1,8 g eines reinweißen Pulvers, mit welchem folgende Bestimmungen [1]) durchgeführt wurden:

Reaktion: neutral, $p_H = 6{,}4$ (c = 1%).

Aschebestimmung: 0,1000 g Substanz ergaben 0,003 g Asche, entsprechend 3%.

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +17{,}06$ (c = 1,149% in Wasser; L = 1).

Beim Kristallisationsversuch nach bekannter Methode durch heißes Lösen der Substanz zu 3% in 85%igem Äthylalkokol, Filtrieren und Ausscheidenlassen in der Kälte, erhielt man die einheitlichen feinstrahligen Sternchen.

[1]) Vergleiche die Anmerkung auf Seite 84.

Haemolyse.

Zum Vergleich der haemolytischen Eigenschaften des kristallisierten Saponins mit dem Saponin purum albissimum Merck, dem mit Schwachstrom elektrodialysierten Handelssaponin und dem durch Salzsäure umgefällten Saponin bestimmte man noch den haemolytischen Index. Wir hielten uns dabei an die Angaben Kofler's [1]) indem wir mit 2 %iger Hammelblutaufschwemmung arbeiteten. Als physiologische Kochsalzlösung verwendeten wir in einem Versuch eine nichtgepufferte NaCl-Lösung, deren p_H wir bei 6,8 bestimmten und mit welcher wir unsere Saponinverdünnungen und Blutaufschwemmungen bereiteten. Der zweite Versuch wurde mit einer 0,9 %igen Kochsalzlösung, welche mit m/15-Phosphatpuffergemisch von p_H = 7,4 eingestellt war, durchgeführt, wobei natürlicherweise auch die Saponinlösung sowie die Blutaufschwemmung mit der gepufferten Kochsalzlösung (p_H = 7,4) hergestellt worden waren. Zur Auswahl der geeigneten Saponinkonzentration bedienten wir uns der Tabelle O. Dafert's: Zur Berechnung des haemolytischen Index [2]).

	p_H = 6,8	p_H = 7,4
Saponinum purum albissimum Merck	26600	25000
Kristallisiertes Saponin	52000	53300
Mit Salzsäure umgefälltes saures Saponin	47000	57000
Mit Schwachstrom elektrodialysiertes saures Saponin	65000	61000

[1]) Kofler, L., Die Saponine. Wien 1927, Seite 151.

[2]) Daselbst, Seite 153.

Zusammenstellung aller in vorliegender Arbeit verwendeten Literatur.

Abderhalden, E., Biochemisches Handlexikon, Bd. VII, 1912/145.

Bentham, G. u. Hooker, J. D., Genera Plantarum, Vol. II, pars. I.

Barth, L. u. Herzig, J., Sitzungsberichte der Wiener Akademie 98 (II b) 150/1889.

Brandl, J. u. Schärtel, G., Über die wirksame Substanz von Baccharis cordifolia (Mio-Mio). Arch. d. Pharm. 253/195/1915.

Bolley, P. A, Über das Saponin und Senegin. Annal. d. Chem. u. Pharm. 90/1854.

Christophson, Vergleichende Untersuchungen über das Saponin usw. Diss. Dorpat 1874.

Crocco, C., Mundt, W. A., Cinat, E, Annales de Farmacia y Biochimica, Buenos-Aires 1931 No. 3.

De Candolle, A. P., Prodromus systematiis naturalis regni vegetabilis. Paris MDCCCXXV, Vol. V, Seite 424.

Dominguez, J. A., Molfino, J. F., Gallielli, E. L., Baccharis serrulata. Trabajos del Instituto de Botanica y Farmacologia de Buenos-Aires No. 40/1919.

Dragendorff, G., Die Heilpflanzen der verschiedenen Völker und Zeiten. Stuttgart 1898.

Endlicher, Euchiridion botanicum, VIII. Seite 236.

Engler, A. u. Prantl, K., Die natürlichen Pflanzenfamilien, IV. 5. Seite 170.

Flückiger, F. A., Zur Kenntnis der weißen Seifenwurzel. Arch. d. Pharm. 228/192/1890.

van der Haar, A. W., Anleitung zum Nachweis, zur Trennung und zur Bestimmung der Monosaccharide und Aldehydsäuren. Borntraeger, Berlin 1920.

„ Über die Struktur der natürlichen Saponine. Arch. d. Pharm. 251/217/1913.

„ Über das Gypsophilasaponin und seine Hydrolysespaltlinge (Gypsogenin) und Saccharide. Rec. Trav. Chim. Pays-Bas. Bd. 46. 1927.

Haas, K., Beiträge zur Pharmakochemie von Equisetum arvens L. und Monographie der Herbae Equisetae. Diss. Basel 1931.

Haberlandt, G., Physiologische Pflanzenatomie. V. Aufl. 1918.

Heering, W., Über die Assimilationsorgane der Gattung Baccharis. Diss. Kiel 1899.

Hepburn, J. S. u. Stroh, R. H., Baccharis trinervis. Americ. Journal of Pharm. 96/804/1924.

Jacobs, W. A., Saponins, Journal Biol. Chem. 63/621/1925.

Karrer, P., Fiorini, W., Widmer, R., Lier, H., Über das Sapogenin der Seifenwurzel (Gypsophilasapogenin). Helv. Chim. Acta 7/781/1924.

Karrer, P. u. Lier, H., Zur Kenntnis des Gypsophilasapogenins II. Helv. Chim. Acta 9/26/1926.

Kobert, R., Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart 1904.
„ Die Saponine. Biochemisches Handlexikon, Bd. VII, Seite 145.

Kofler, L., Die Saponine. Springer, Wien 1927.
„ Methodische Wertbestimmung von Arzneimitteln. In: Untersuchungs- u. Forschungsmethoden der Pharmazie, Bd. II 1930, Seite 1607, IV. Saponindrogen.
„ Über das Saponin der Primulawurzel, Arch. d. Pharm. 262/318 1924.

Kofler, L. u. Dafert, O., Über das Saponin von Gypsophila paniculata. Ber. d. Pharm. Ges. 32/215/1923.

Kofler, L., Fischer, R. u. Newesely, H., Über den Nachweis von Saponin in den Arzneimitteln und Lebensmitteln (Cholesterinschranke). Arch. d. Pharm. u. Ber. d. Pharm. Ges. 267/685 1929.

Kofler, L. u. Karsmark, K. A., Über den Einfluß von Alkali bei Haemolyseversuchen an Drogenauszügen. Pharm Zentralhalle 66/717/1925.

Kofler, L. u. Wolkenberg, A., Über das Verhalten von Saponinen bei der Dialyse. Biochem. Zeitschr. 160/398/1925

Kupfer, E., Anatomie und Physiologie von Baccharis genistelloides. Bulletin Torray Botanical Club. XXX. 1903

Martius, C. F. Ph. von, Flora von Brasilien, Bd. VI, Teil III.
„ Systema materiae medicae Brasiliensis. Regensburg 1843.

Pauli, Wo., Untersuchungen an elektrolytfreien wasserlöslichen Proteinkörpern. I. Mitteilung: Die Elektrodialyse. Biochem. Zeitschr. 152/355/1924.

Peckolt, Materia medica brasiliensis.

Pisonis, G., et Marcgravii, Hist. Natur. Brasiliae. Amstelod 1684.

Pfau, E., Über Dialyseversuche mit Saponin und saponinhaltigen Drogen. Apoth.-Ztg. 100/1330/1925.

Reich, C., La Flora de Chile. Seite 15.

Reilly, The Electrodialyse. The scientific Proceedings of the Royal Dublin Society. Soc. 19/1930.

Rochleder, Sitzungsberichte der Wiener Akademie. 45 (II)/7/1862.
„ Ebenda 56 (II)/97/1867.

Rochleder u. Schwarz, Ebenda 11 (I)/1853.

Rosenthal, D. A., Synopsis Plantarum diaphoricarum. Systematische Übersicht der Heil-, Nutz- und Giftpflanzen aller Länder. Erlangen 1862.

Rosenthaler, L., Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung, Springer, Berlin 1928, III. Auflage.

„ Die im Kofler'schen Verzeichnis nicht angeführten Saponine, Apoth.-Ztg. 39/1928.

„ Über das Saponin der Seifenwurzel, Arch. d. Pharm. 243/496/1905.

„ Über das Saponin in Bellis perennis, Pharm. Zentralhalle 72/633/1931.

„ Der Nachweis organischer Verbindungen, II. Aufl. 1923.

Tschirch, A, Angewandte Planzenanatomie.

Vellozo, J. M., Index methodicus iconorum Florae Fluminensis. Vol. VIII/72.

„ Quinographica Portugueza, 1799.

Vesque, Gamopetales, Annal. d. Sc. Nat. Ser.

Wentrup, F., Beiträge zur Kenntnis der Saponine. Diss. Straßburg 1908.

Windaus, A., Über die Saponine und ihre Beziehungen zu anderen Pflanzenstoffen, Nachr. d. G. d. Wiss. Göttingen, math.-phys. Klasse, Juli 1925.

Windaus, A., Hampe, E. u. Rabe, M., Über das Saponin der Quillayasäure. Zeitschr. f. physiol. Chem. 160/301/1926.

Winterstein, A. u. Mitarbeiter, Untersuchungen in der Saponinreihe, Zeitschr. f. physiol. Chem. 199/1931.

Wittstein, G. C., Etymologisch-Botanisches Hand-Wörterbuch. Erlangen 1856.

Zellner, J., Studien über die chemischen Bestandteile heimischer Arzneipflanzen. Arch. d. Pharm. u. Ber. D. Pharm. Ges. II/1925 u. I/1927.

Zimmermann, J., Über die Spaltung des Gypsophila-Saponins Diss. Straßburg 1909.

Curriculum vitae.

Am 26. September 1901 wurde ich, Wilhelm Theodor Martius, in München geboren als Sohn des jetzt in Bad Aibling (Oberbayern) im Ruhestand lebenden Generalarztes Dr. med. Georg Martius und seiner Gattin Lucie geb. Müller. Beide Eltern besitzen gleich mir die bayrische Staatsangehörigkeit.

Von 1907 bis 1911 besuchte ich die Volksschule in Würzburg und München, von 1912 bis 1915 das Realgymnasium zu München. Von 1915 an Angehöriger des Kgl. bayrischen Kadettenkorps, verließ ich dieses 1920 infolge Auflösung der Anstalt mit Primareife. Nach dreijähriger Ausbildung in der Apotheke bestand ich die pharmazeutische Vorprüfung und bezog nach einjähriger Konditionszeit 1924 die Universität Erlangen. Im Herbst 1926 legte ich daselbst die Staatsprüfung ab. Nach 24 monatlicher Tätigkeit in reichsdeutschen Apotheken als Kandidat der Pharmazie erhielt ich im Dezember 1928 die Approbation als Apotheker. Im Sommersemester 1930 nahm ich meine Studien wieder auf; zunächst an der Universität Zürich, wo ich im Medizinisch-chemischen Institut der Universitätspoliklinik praktizierte. Im Herbst 1930 begann ich am Pharmazeutischen Institut der Universität Basel unter Leitung der Herren Professoren Dr. H. Zörnig und Dr. P. Casparis vorliegende Arbeit, welche ich im Herbst 1932 abschloß.

Während meiner Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen und praktischen Übungen folgender Dozenten: in Erlangen: M. Busch, O. Fischer, H. Gradmann, B. Gudden, L. Heim, F. Henrich, K. Noack, A. Pummerer, G. Specht, E. Wiedemann; in Zürich: E. Herzfeld, P. Karrer; in Basel: E. Berger, P. Casparis, R. Dörr, F. Fichter, H. Rupe, G. Senn, H. Zörnig.

Allen meinen verehrten Lehrern spreche ich hiemit meinen besten Dank aus.

Heering, W., Über die Assimilationsorgane der Gattung Baccharis. Diss. Kiel 1899.

Hepburn, J. S. u. Stroh, R. H., Baccharis trinervis. Americ. Journal of Pharm. 96/804/1924.

Jacobs, W. A., Saponins, Journal Biol. Chem. 63/621/1925.

Karrer, P., Fiorini, W., Widmer, R., Lier, H., Über das Sapogenin der Seifenwurzel (Gypsophilasapogenin). Helv. Chim. Acta 7/781/1924.

Karrer, P. u. Lier, H., Zur Kenntnis des Gypsophilasapogenins II. Helv. Chim. Acta 9/26/1926.

Kobert, R., Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart 1904.
„ Die Saponine. Biochemisches Handlexikon, Bd. VII, Seite 145.

Kofler, L., Die Saponine. Springer, Wien 1927.
„ Methodische Wertbestimmung von Arzneimitteln. In: Untersuchungs- u. Forschungsmethoden der Pharmazie, Bd. II 1930, Seite 1607, IV. Saponindrogen.
„ Über das Saponin der Primulawurzel, Arch. d. Pharm. 262/318 1924.

Kofler, L. u. Dafert, O., Über das Saponin von Gypsophila paniculata. Ber. d. Pharm. Ges. 32/215/1923.

Kofler, L., Fischer, R. u. Newesely, H., Über den Nachweis von Saponin in den Arzneimitteln und Lebensmitteln (Cholesterinschranke). Arch. d. Pharm. u. Ber. d. Pharm. Ges. 267/685 1929.

Kofler, L. u. Karsmark, K. A., Über den Einfluß von Alkali bei Haemolyseversuchen an Drogenauszügen. Pharm Zentralhalle 66/717/1925.

Kofler, L. u. Wolkenberg, A., Über das Verhalten von Saponinen bei der Dialyse. Biochem. Zeitschr. 160/398/1925

Kupfer, E., Anatomie und Physiologie von Baccharis genistelloides. Bulletin Torray Botanical Club. XXX. 1903

Martius, C. F. Ph. von, Flora von Brasilien, Bd. VI, Teil III.
„ Systema materiae medicae Brasiliensis. Regensburg 1843.

Pauli, Wo., Untersuchungen an elektrolytfreien wasserlöslichen Proteinkörpern. I. Mitteilung: Die Elektrodialyse. Biochem. Zeitschr. 152/355/1924.

Peckolt, Materia medica brasiliensis.

Pisonis, G., et Marcgravii, Hist. Natur. Brasiliae. Amstelod 1684.

Pfau, E., Über Dialyseversuche mit Saponin und saponinhaltigen Drogen. Apoth.-Ztg. 100/1330/1925.

Reich, C., La Flora de Chile. Seite 15.

Reilly, The Electrodialyse. The scientific Proceedings of the Royal Dublin Society. Soc. 19/1930.

Rochleder, Sitzungsberichte der Wiener Akademie. 45 (II)/7/1862.
„ Ebenda 56 (II)/97/1867.

Rochleder u. Schwarz, Ebenda 11 (I)/1853.

Rosenthal, D. A., Synopsis Plantarum diaphoricarum. Systematische Übersicht der Heil-, Nutz- und Giftpflanzen aller Länder. Erlangen 1862.

Rosenthaler, L., Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung, Springer, Berlin 1928, III. Auflage.

„ Die im Kofler'schen Verzeichnis nicht angeführten Saponine, Apoth.-Ztg. 39/1928

„ Über das Saponin der Seifenwurzel, - Arch. d. Pharm. 243/496/1905.

„ Über das Saponin in Bellis perennis, Pharm. Zentralhalle 72/633/1931.

„ Der Nachweis organischer Verbindungen, II. Aufl. 1923.

Tschirch, A, Angewandte Planzenanatomie.

Vellozo, J. M., Index methodicus iccnorum Florae Fluminensis. Vol. VIII/72.

„ Quinographica Portugueza, 1799.

Vesque, Gamopetales, Annal. d. Sc. Nat. Ser.

Wentrup, F., Beiträge zur Kenntnis der Saponine. Diss. Straßburg 1908.

Windaus, A., Über die Saponine und ihre Beziehungen zu anderen Pflanzenstoffen, Nachr. d. G. d. Wiss. Göttingen, math.-phys. Klasse, Juli 1925.

Windaus, A., Hampe, E. u. Rabe, M., Über das Saponin der Quillayasäure. Zeitschr. f. physiol. Chem. 160/301/1926.

Winterstein, A. u. Mitarbeiter, Untersuchungen in der Saponinreihe, Zeitschr. f. physiol. Chem. 199/1931.

Wittstein, G. C., Etymologisch-Botanisches Hand-Wörterbuch. Erlangen 1856.

Zellner, J., Studien über die chemischen Bestandteile heimischer Arzneipflanzen. Arch. d. Pharm. u. Ber. D. Pharm. Ges. II/1925 u. I/1927.

Zimmermann, J., Über die Spaltung des Gypsophila-Saponins Diss. Straßburg 1909.

Curriculum vitae.

Am 26. September 1901 wurde ich, Wilhelm Theodor Martius, in München geboren als Sohn des jetzt in Bad Aibling (Oberbayern) im Ruhestand lebenden Generalarztes Dr. med. Georg Martius und seiner Gattin Lucie geb. Müller. Beide Eltern besitzen gleich mir die bayrische Staatsangehörigkeit.

Von 1907 bis 1911 besuchte ich die Volksschule in Würzburg und München, von 1912 bis 1915 das Realgymnasium zu München. Von 1915 an Angehöriger des Kgl. bayrischen Kadettenkorps, verließ ich dieses 1920 infolge Auflösung der Anstalt mit Primareife. Nach dreijähriger Ausbildung in der Apotheke bestand ich die pharmazeutische Vorprüfung und bezog nach einjähriger Konditionszeit 1924 die Universität Erlangen. Im Herbst 1926 legte ich daselbst die Staatsprüfung ab. Nach 24 monatlicher Tätigkeit in reichsdeutschen Apotheken als Kandidat der Pharmazie erhielt ich im Dezember 1928 die Approbation als Apotheker. Im Sommersemester 1930 nahm ich meine Studien wieder auf; zunächst an der Universität Zürich, wo ich im Medizinisch-chemischen Institut der Universitätspoliklinik praktizierte. Im Herbst 1930 begann ich am Pharmazeutischen Institut der Universität Basel unter Leitung der Herren Professoren Dr. H. Zörnig und Dr. P. Casparis vorliegende Arbeit, welche ich im Herbst 1932 abschloß.

Während meiner Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen und praktischen Übungen folgender Dozenten: in Erlangen: M. Busch, O. Fischer, H. Gradmann, B. Gudden, L. Heim, F. Henrich, K. Noack, A. Pummerer, G. Specht, E. Wiedemann; in Zürich: E. Herzfeld, P. Karrer; in Basel: E. Berger, P. Casparis, R. Dörr, F. Fichter, H. Rupe, G. Senn, H. Zörnig.

Allen meinen verehrten Lehrern spreche ich hiemit meinen besten Dank aus.